

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

REPUBLIQUE DU MALI

UN PEUPLE - UN BUT - UNE FOI

UNIVERSITE DES SCIENCES, DES TECHNIQUES ET DES
TECHNOLOGIES DE BAMAKO



U.S.T.T-B



FACULTE DE MEDECINE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE

Année Universitaire 2016-2017

Thèse N°/___/

TITRE:

**Effet de la chimio prévention du paludisme
saisonnier (CPS) sur l'infection palustre, l'anémie
et la proportion d'expression de PD1 sur les cellules
T CD4 chez les enfants âgés de 12 à 59 mois au
début et en fin de la saison de transmission du
paludisme en 2015 à Ouelessebouyou, Mali.**

THESE

Présentée et soutenue publiquement le 03/Aout/2017 devant la Faculté de
Médecine et d'Odonto-Stomatologie

Par Monsieur Mamoudou Samassekou

Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine (Diplôme d'Etat)

JURY

Président:	Pr Mahamadou A THERA
Membre:	Dr Issaka Sagara
Membre :	Dr Seidina A.S Diakité
Co-directeur:	Dr Oumar Attaher
Directeur:	Pr Alassane Dicko

**Je commence ce travail par rendre hommage à mon Seigneur le tout
puissant, le tout Miséricordieux pour m’avoir donné la faculté
d’accomplir cette œuvre.**

DEDICACES ET REMERCIEMENTS

DÉDICACES

Je dédie ce modeste travail :

A mon père, feu Badara Garba SAMASSEKOU

Cher père vous qui avez conduit mes premiers pas à l'école, vous qui avez toujours été soucieux de l'avenir de votre famille. Votre soutien moral et matériel ne m'a jamais fait défaut. J'ai admiré votre calme qui n'est sans doute pas une indifférence. Il est celui de la sagesse et de la conviction religieuse.

A ma mère Kowido SANGHO

Chère mère éducatrice exemplaire de la famille. Vous n'êtes jamais fatiguée ; en m'amenant à accepter et aimer les autres avec leurs différences, vous avez cultivé en moi les vertus de la tolérance et de l'amour du prochain sur un fond de tendresse et d'affectivité.

Trouvez ici chère mère l'expression de ma profonde reconnaissance et de mon amour indéfectible.

REMERCIEMENTS

Mes remerciements s'adressent :

A mon oncle et à ma tante : Mamoudou Garba Samassekou et Aiche Berthé. Je vous dis merci pour votre affection filiale et recevez ici ma profonde reconnaissance.

A mes frères et sœurs : Sadio (coupou), Hamidou (koko), Amadou (Djeng), Mamadou (DAFE), Soumaila, Houley (Gogo si), Gogo, Diodo, Nyama, Pama Fatou et Garba (Papis) SAMASSEKOU. Je vous dis simplement merci pour votre affection. Je vous souhaite un avenir brillant en rappelant que le travail est libérateur.

A Mr Barou Coulibaly, les mots me manquent pour exprimer tout le bien que nous pensons de vous. Qu'Allah le tout puissant vous protège. Amen

A mes nièces et neveux : Je vous souhaite un avenir brillant en rappelant que le travail est libérateur.

A mes amis et complices, Sira Kalilou KOITA et Adama K SIDIBE en réalité vous êtes à la fois des amis et des frères pour moi. Chers amis et collègue, c'est l'occasion pour moi de vous témoigner toute ma sympathie.

A l'équipe MRTC Ouéléssébougou : Dr Oumar Attaher ; Dr Djibrilla Issiaka Touré ; Dr Almahamoudou Mahamar ; Dr Amadou Barry ; Dr Gaoussou Santara ; Dr Sibiri Sissoko ; Dr Harouna Soumaré, Dr Moussa Traoré ; Dr Koualy Sanogo ; Dr Seydou Traoré ; Dr Tiangua Traoré ; Mr Bakary Soumana Diarra ; Mr Adama Dembelé, Mr Sekouba Keita, Mr Adama Sissoko, Mr Idrissa Samaké, Mr Ibrahima Diarra, Mr Alhousseny Dicko, Mme Keita DEMBELE Korotoumou, Mme Sissoko FANE Aminata, Mme Wassa Doumbia, Mme Bagayogo Samaké Saran . Nous avons constitué une famille. Permettez-moi de vous exprimer ici ma profonde gratitude et de mon indéfectible respect.

A nos guides : Mr Bakari Samaké, Mr Dama Doumbia et Mr Cheick Oumar Ballo et **A toute la population de l'aire de santé de Ouelessebougou.** Je dis merci pour l'hospitalité légendaire, la franche collaboration dans l'esprit d'équipe.

A nos collaborateurs du NIH, Michal Fried et Patrick Diffy, Vous avez été d'un grand apport dans la réalisation de ce travail. Merci pour votre collaboration franche, fructueuse, votre disponibilité et votre amour pour le travail bien fait ; vous avez été pour moi un idéal à suivre.

A tous mes amis et collègues en thèse ou déjà docteurs au DEAP :

Madame Sanogo Fatoumata Traore, Mr Mahamadou Maiga, Mr Sidi Mohamed Niambelé.

A tous les chercheurs du DEAP/MRTC : Je ne citerai pas de nom au risque d'en oublier. Merci pour votre collaboration, votre contribution et surtout pour votre esprit d'équipe.

A tout le personnel du DEAP/MRTC (informaticiens, gestionnaires, chauffeurs, secrétaires et manœuvre).

J'aimerais vous dire merci pour votre grande disponibilité et pour votre franche collaboration.

A tout le corps professoral de la FMOS et FAPH : Je voudrais à travers ces mots vous dire toute ma gratitude en vous disant merci pour l'enseignement reçu et les différents encadrements pendant ma formation.

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DU JURY

Professeur Mahamadou Aly THERA

- ✓ **Maitre de conférence agrégé de parasitologie-mycologie a la faculté de Médecine, de pharmacie et Odonto-Stomatologie ;**
- ✓ **Chef de l'unité de Développement Clinique du Vaccin Antipaludique du MRTC ;**

Cher Maître,

Nous avons bénéficié de votre enseignement de qualité au sein de cette faculté.

Cher Maître, nous avons beaucoup admiré vos qualités scientifiques et pédagogiques. Votre simplicité et votre disponibilité font de vous un grand maître que nous gardons en mémoire.

Veillez trouver ici, cher Maître, l'expression de nos sentiments respectueux.

A NOTRE MAITRE ET JUGE

Dr Issaka Sagara

- ✓ ***Médecin chercheur au MRTC***
- ✓ ***PhD en sante publique, spécialité Biostatistique***
- ✓ ***Chef Adjoint de l'unité Epidémiologie, Biostatistique et gestion des données du MRTC ;***

Cher maître,

Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de siéger dans ce jury de ce modeste travail. Nous avons beaucoup admiré vos qualités humaines, scientifiques et pédagogiques. Votre discrétion, votre dynamisme et votre disponibilité constante font de vous un maître exemplaire, admiré de tous. Permettez-nous cher maître de vous réitérer, l'expression de notre profonde gratitude et de notre indéfectible disponibilité.

A NOTRE MAITRE ET JUGE

Dr Seïdina A S Diakité

- ✓ ***Pharmacien chercheur à MRTC***
- ✓ ***PhD en immunologie (UPMC/USTTB)***
- ✓ ***Maitre-Assistant en Immunologie à la FMPOS***

Cher maître,

C'est le lieu de vous remercier pour votre modestie, votre disponibilité constante, vos qualités scientifiques et pédagogiques, et votre rigueur pour le travail bien fait qui font de vous un maître apprécié. Permettez-nous cher maître de vous adresser l'expression de notre plus profonde reconnaissance.

A NOTRE MAITRE ET CO-DIRECTEUR

Dr Oumar Attaher

✓ Pharmacien chercheur à MRTC

✓ Investigateur Principal de l'étude T Cell à Ouelessebouyou

Cher maître,

C'est un grand honneur pour nous que vous ayez accepté de co-diriger ce travail de thèse, Votre savoir faire dans l'exercice de votre profession, la clarté de vos raisonnements scientifiques sont autant de qualités qui font de vous un maître de classe exceptionnelle, Soyez rassuré ici cher maître, de notre profond respect et de notre reconnaissance, que le tout puissant vous bénisse et vous accorde longue vie.

A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE

Professeur Alassane A DICKO

- ✓ ***Professeur titulaire d'épidémiologie et de santé publique ;***
- ✓ ***Fondateur et Responsable du Centre de Recherche Clinique de Ouelessebougou ;***
- ✓ ***Chef de l'Unité d'épidémiologie, Biostatistique et gestion des données au Malaria research and training Center, Faculté de pharmacie, Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie ;***
- ✓ ***Directeur de programme de recherche à la Faculté de Pharmacie et à la Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie ;***

Cher maître,

Permettez-nous de vous remercier pour la confiance que vous nous avez faite en nous acceptant dans votre équipe de recherche. Nous gardons de vous l'image d'un homme de sciences rigoureux, appliqué et attaché au travail bien fait. Ces qualités couplées à votre simplicité et votre générosité fait de vous un maître respectueux. Malgré vos multiples occupations vous avez été disponible pour nous ; tout au long de ce travail.

Cher maître, vous resterez pour nous une référence et un bel exemple à suivre.

Table des matières

LISTE DES FIGURES	xvi
LISTE DES ABREVIATIONS	xvii
I. Introduction.....	1
II. OBJECTIFS	5
1. Objectif principal.....	5
2. Objectifs secondaires.....	5
III. GENERALITES	7
1. Rappel sur le paludisme.....	7
1.1. Définition	7
1.2. Profil épidémiologique.....	7
1.3. Chaîne épidémiologique	8
1.4. Cycle des plasmodies.....	9
1.5. Physiopathologie du paludisme	10
1.6. Diagnostic parasitologique	13
1.7. Traitement.....	17
2. Anémie	19
2.1. Définition de l'anémie.....	19
2.2. Signes cliniques	20
2.3. Classification de l'anémie	20
2.4. Physiopathologie de l'anémie palustre :	21
2.5. Méthodes de détection de l'anémie au laboratoire	22
2.6. Traitement et prévention de l'anémie	23
3. Les lymphocytes T	25
3.1. Morphologie	26
3.2. Origine et maturation	26
3.3. Sous population de lymphocytes T et fonctions	31
3.4. Activation Interactions cellulaires	Erreur ! Signet non défini.
IV. METHODOLOGIE	37
1. Lieu de l'étude	37
1.1. Bènéko	37
1.1.1. Historique	37
1.2. Férékoroba	40
2. Type d'étude.....	41
3. Période et population d'étude	41
4. Critères d'inclusion et de non inclusion	42
4.1. Critères d'inclusion.....	42

4.2. Critères de non inclusion	42
5. Organisation du travail	42
6. Critères de jugement de l'étude	44
7. Taille de l'échantillon	44
8. Enrôlement et recrutement des participants.....	45
V. RESULTATS.....	55
1. Démographie.....	Erreur ! Signet non défini.
2. Expression de PD-1 par les cellules CD4+	Erreur ! Signet non défini.
3. Anémie	Erreur ! Signet non défini.
VI. COMMENTAIRES ET DISCUSSION.....	62
1. Au plan méthodologies.....	62
2. Sur le plan résultats	62
VII.CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS	67
1. Conclusion	67
2. Recommandations	Erreur ! Signet non défini.
VIII.REFERENCES	69
IX. FICHE SINNLETIQUE	73
Serment d'hypocrate	77

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I	Répartition des enfants en fonction du sexe et des groupes et des groupes de traitement.....	57
Tableau II	Répartition des enfants en fonction de l'âge (mois) et des groupes et des groupes de traitement	57
Tableau III	Répartition des enfants en fonction de la goutte épaisse et par groupes de traitement en début de saison.	58
Tableau IV	Répartition des enfants en fonction de la goutte épaisse et par groupes de traitement en fin de saison.	58
Tableau V	Répartition des enfants en fonction de type d'anémie et par groupes de traitement en début de saison.....	59
Tableau VI	Répartition des enfants en fonction de type d'anémie et par groupes de traitement en fin de saison.....	59
Tableau VII	Proportion d'expression de PD1 sur les cellules T CD4+.....	61

LISTE DES FIGURES

<i>Figure 1 :</i>	Cycle de développement du Plasmodium.....	10
<i>Figure 2 :</i>	Test de dépistage optimal pour le Plasmodium falciparum.....	15
<i>Figure 3 :</i>	Structure de lymphocyte T	26
<i>Figure 4 :</i>	Carte sanitaire de Ouelessebougou.....	37
<i>Figure 5 :</i>	Technique du frottis mince.....	48
<i>Figure 6 :</i>	Technique de la goutte épaisse.....	50
<i>Figure 7 :</i>	Hemocue.....	51
<i>Figure 8 :</i>	BD LSR II flow cytometer.....	53
<i>Figure 9 :</i>	Stratégie d'analyse de la proportion de CD4+PD1+.....	53
<i>Figure 10 :</i>	Répartition des enfants en fonction de l'anémie définie par un taux d'hémoglobine inférieur à 11 g/dl (Hb <11 g/dl) et par groupes de traitement en début de saison.....	58
<i>Figure 11 :</i>	Répartition des enfants en fonction de l'anémie définie par un taux d'hémoglobine inférieur à 11 g/dl (Hb <11 g/dl) et par groupes de traitement en fin de saison.....	59

LISTE DES ABREVIATIONS

ATP	Adénosinetriphosphate
AS	Artésunate
ADN	Acide désoxyribonucléique
Ag	Antigène
Ac	Anticorps
AT	Artéméther
AQ	Amodiaquine
Bcl-6	B-cell lymphoma 6 protein
CPS	Chimio prévention du paludisme saisonnier
CTA	Combinaison thérapeutique à base d'artémisinine
CCMH	Concentration corpusculaire moyenne des hématies
CD	Cluster of differentiation
CMH	Complexe majeur d'histocompatibilité
CLP	Common lymphoid progenitor(Progéniteur commun lymphoïde)
CCR9	Chemokine receptor type 9(récepteur Chemokine type 9)
CCL21	Chemokine ligand 21
CXCR4	Chemokine receptor type 4 (récepteur Chemokine type 4)
CXCL12	Stromal cell-derived factor 1(Facteur dérivé de cellules stromales 1)
CPA	Cellules présentatrices d'antigènes
CTLA-4	Antigènes associés aux lymphocytes T cytotoxiques
CISO	Co-stimulateurs inductibles
CSCOM	Centre de santé communautaire
CRF	cahier d'observation
CTECs	cellules épithéliales du cortex thymique
Cm	Centimètre
DP	Double Positif
DTC	Directeur technique du centre
DI	Déciltre

EDSM	Enquête démographique et de santé du Mali
ELP	Early lymphoid progenitor
EPO	Erythropoïétine
EDTA	Acide éthylène diamine tétra-acétique
ELISA	Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay
FM	Frottis mince
GE	Goutte épaisse
GG6PD	Glucose-6-phosphate Déshydrogénase
HRP 2	Histidine rich protein 2
H	Heure
IV	Intraveineux
IM	Intra musculaire
IR	Intra rectal
IL	Interleukine
ICAM-1	Inter Cellular Adhesion Molecule-1
J	Jour
Km	Kilomètre
LMPP	Lympho-myeloid prime progenitor (progéniteur lympho-myeloid primaire)
LDH	Lactate déshydrogénases
LFA-1	Lymphocyte function-associated antigen 1 (fonction lymphocyte associée au antigène 1)
MII	Moustiquaire imprégnée d'insecticide
MAIT	Lymphocyte T invariants associés aux muqueuses
MPP	Multipotent progenitor
Mg	Milligramme
NKT	Natural killer T (Cellules T tueuse naturelle)
MRTC	Malaria Research and Training Center (Centre de recherche et de formation sur le paludisme)
OMS	Organisation mondiale de santé

OHVN	Office de la haute vallée du Niger
PD-1	Programmed Cell death 1 (Mort cellulaire programmée 1)
PID	Pulvérisation intra domiciliaire
PF	Plasmodium falciparum
PEV	Programme élargi de la vaccination
PNLP	Politique national de lutte contre le paludisme
PCR	polymerase chain reaction (Réaction en chaîne de la polymérase)
PBS n	Phosphate buffered saline (Solution saline tamponnée au phosphate)
PSGL1	P-selectin glycoprotein ligand-1(P-sélectine glycoprotéine ligand-1)
RAG-1	Gène activant la reconnaissance
SP	Sulfadoxine Pyrimethamine
SIDA	Syndrome d'immunodéficience acquise
SRI	Santé reproductive et infantile
T	Thymus
TCMH	Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine
Treg	T régulateur
TCR	T-Cell receptor(Récepteur T-Cell)
TDR	test de diagnostic rapide
QBC	Quantitative Buffy Coat
VGM	Volume globulaire moyen
VIH	Virus de l'immunodéficience humain
μl	Microlitre
γδ	Gamma delta
α	Alpha
β	Beta
Sd :	standard déviation
Iqr :	intervalleinterquartile
Min :	minimum
Max:	maximum

INTRODUCTION

I. Introduction

Le paludisme est une érythrocytopathie fébrile et hémolysante due à la présence et au développement dans le foie puis dans les hématies d'un hématozoaire du genre *Plasmodium* [1]. Il est transmis à l'homme par la piquûre infestante du moustique femelle du genre *Anophèles*. Cinq espèces plasmodiales sont inféodées à l'homme (*Plasmodium falciparum*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malaria* et *Plasmodium knowlesi*), cependant *Plasmodium falciparum* reste de loin le plus dangereux et est incriminés dans la grande majorité des cas sévère et mortels dans le monde [2]. En 2015, le nombre de cas de paludisme s'est élevé à 214 millions, dont 88% en Afrique Sub-saharienne. Le nombre de cas de décès due au paludisme était estimé à 438.000 avec la majorité des cas (90%) en Afrique selon OMS [2]. Le nombre de décès dus au paludisme chez les enfants de moins de 5 ans était estimé à 306.000 dans le monde.

Au Mali, le paludisme représente 40% des motifs de consultation dans les formations sanitaires publiques selon les données du système d'information sanitaire [3]. La population exposée au risque du paludisme était estimée entre 16-18 millions en 2016 et le nombre de décès reste largement sous-estimé~3000 par an vs 12.000 à 20.000 attendus [4]. Au cours de la période allant du 1^{er} janvier au 30 septembre 2015, 1.497.915 cas présumés de paludisme ont été enregistrés dans le pays dont 690.590 positifs au test de laboratoire [3]. La transmission du paludisme au Mali est fortement saisonnière et survient essentiellement pendant la saison des pluies qui varie de 3 à 6 mois en fonction des différents faciès épidémiologiques [6].

Le taux d'incidence de paludisme était de 8,3 pour mille chez les enfants de moins de 5 ans.

Le paludisme est responsable dans 8 à 28% des cas de l'anémie chez les enfants [7]. Selon EDSM 2012-2013, 21 % des enfants de 6-59 mois ont un taux d'hémoglobine inférieur à 8,0 g/dl. Cette proportion est plus élevée chez les enfants de 9-47 mois que dans les groupes d'âges extrêmes, avec un pic de 32 % à 18-23 mois. Les garçons sont légèrement plus anémiés 22% que les

filles 19% [7]. A l'absence de vaccin, des stratégies de contrôle simples et efficaces sont nécessaires d'urgence pour réduire le fardeau du paludisme en Afrique sub-saharienne. La lutte anti vectorielle, en utilisant des moustiquaires imprégnées d'insecticide (MII), des rideaux imprégnés d'insecticide, ou la pulvérisation intra domiciliaire (PID) peut réduire significativement la mortalité et la morbidité du paludisme [8], mais dans les zones de forte transmission, ces interventions procurent une protection partielle et des mesures de contrôle supplémentaires sont nécessaires. Il a été récemment démontré que la Chimio prévention du Paludisme Saisonnier (CPS) précédemment connue sous le nom de traitement préventif intermittent du paludisme chez les enfants, réduit l'infection palustre ainsi que le paludisme maladie de plus de 80% chez les enfants maliens, encourageant l'OMS à approuver la CPS comme politique pour les pays sahéliens en Mars 2012 [9-10]. La CPS consiste à l'administration du traitement curatif complet de médicament antipaludique au cours de la saison de haute transmission du paludisme pour prévenir le paludisme avec comme objectif de maintenir les concentrations de médicaments antipaludiques à dose thérapeutique dans le sang tout au long de la période de haute transmission du paludisme. Cette stratégie est très efficace, sûre et rentable pour la prévention du paludisme chez les enfants de moins de 5 ans dans les zones à forte transmission saisonnière du paludisme, comme la région du Sahel en Afrique [10]. Cependant l'effet de cette mesure préventive sur la survenue de l'anémie et l'expression de la protéine PD1 sur les cellules T CD4 n'a pas été examiné.

La protéine cellulaire de la mort programmée (PD1) est un membre de la famille étendue de molécules qui sont connues pour réguler la fonction de la cellule T. Elle a deux ligands connus, PD-L1 (B7-H1) et PD-L2 (B7-DC), qui appartiennent tous deux à la famille des molécules de co-signalisation de B7.

Plusieurs études ont élucidées l'implication de PD1 dans la pathogenèse et l'immunité antipalustres du paludisme. L'une des premières études à examiner l'expression de PD1 pendant le paludisme a utilisé un modèle de souris pour montrer l'expression de PD1 sur des lymphocytes T CD4⁺ exprimant IL-7R et

CD8+ [32] ; De même, Butler et al ont montré que le PD1 était également exprimé sur le CD4 + [29-30] et les lymphocytes T CD8 + [31] dans le sang d'individus infectés par *P falciparum* au Mali et le Kenya, mais aucune preuve fonctionnelle d'épuisement n'a été fournie. Cependant il a été démontré que le PD1 entraîne une réduction de la capacité des lymphocytes T CD4+ spécifiques au parasite à proliférer et à sécréter l'IFN- γ et le TNF- α pendant la phase chronique du paludisme (jour 35) indiquant l'épuisement de ces cellules [30]. La présente étude se propose d'évaluer l'effet de la stratégie sur l'infection palustre, l'anémie, et la proportion d'expression de PD1 sur les cellules T CD4 chez les enfants âgées de 12 à 59 mois en début et en fin de la saison de transmission du paludisme en 2015 à Ouelessebouyou.

OBJECTIFS

II. OBJECTIFS

1. Objectif principal

Evaluer l'effet de la CPS sur la proportion d'expression de PD1 sur les cellules T CD4+ chez les enfants âgés de 12 à 59 mois à Ouelessebouyou.

2. Objectifs secondaires

- Comparer la prévalence de l'infection palustre chez les enfants ayant reçus ou non la chimio prévention du paludisme saisonnier au début et en fin de la saison de transmission du paludisme,
- Comparer le taux d'hémoglobine chez les enfants ayant reçus ou non la chimio prévention du paludisme saisonnier au début et en fin de la saison de transmission du paludisme.

GENERALITES

III. GENERALITES

1. Rappel sur le paludisme

1.1. Définition

Le paludisme est dû à des parasites du genre *Plasmodium* transmis à l'homme par des piqûres de moustiques Anophèles femelles infectés, appelés « vecteurs du paludisme ». Il existe 5 types d'espèces de parasite responsables du paludisme chez l'homme, dont *Plasmodium falciparum* et *P. vivax* sont les plus dangereux. *Plasmodium falciparum* est le parasite du paludisme le plus répandu sur le continent africain. Il est responsable de la plupart des cas mortels dans le monde, *P. vivax* est le parasite prédominant hors d'Afrique [2].

1.2. Profil épidémiologique

Le paludisme est présent dans la majeure partie du monde intertropical ; mais l'impact de la maladie varie considérablement d'une région à une autre. Cette diversité repose sur trois paramètres :

- les modalités de transmission liées à la présence de biotopes favorables aux anophèles et la qualité vectrice des espèces présentes,
- les espèces plasmodiales impliquées,
- les réactions de défense des êtres humains face à la maladie.

Sur le plan épidémiologique, la situation du paludisme dans une communauté peut être décrite en termes d'endémicité, celle-ci donne des indications sur l'importance de la transmission, la circulation du parasite dans la communauté et l'intensité de la maladie. Elle permet aussi de décrire le problème du paludisme dans l'espace (zone à risque) et dans le temps (saison de transmission). L'indice de stabilité du paludisme déterminé par Mc Donald en 1957, caractérise l'enracinement du paludisme. Il permet de distinguer :

- les zones de paludisme stables où la forte transmission entraîne une prémunition. Celle-ci n'empêche pas les habitants d'être parasités mais limite les manifestations pathologiques aux classes d'âge les plus jeunes alors que les adultes sont peu touchés,

- les zones de paludisme instables où le caractère épisodique de la transmission ne permet pas le développement de la prémunition ; la maladie sévit sous formes d'épidémie meurtrière touchant toutes les classes d'âge,
- entre ces deux extrêmes existe toute une diversité de situations intermédiaires, modulées par différents facteurs comprenant le type de transmission, le type de vecteur, l'espèce plasmodiale en cause, le niveau d'immunité dans les populations ainsi que les caractéristiques environnementales.

1.3. Chaîne épidémiologique

➤ Parasite

On distingue actuellement cinq espèces de *Plasmodium* qui parasitent l'homme : *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale* et *Plasmodium knowlesi*.

Plasmodium falciparum est responsable du paludisme le plus répandu sur le continent Africain. Il est responsable de la plupart des cas mortels dans le monde. C'est lui qui tue et parasite les hématies quelque soient leurs âges, son incubation dure 7 à 15 jours.

Plasmodium malariae, responsable de la fièvre quarte à recrudescence tardive. Son incubation dure entre 18 et 40 jours.

- *Plasmodium vivax* est présent à plus d'endroits que *Plasmodium falciparum* et, est prédominant hors d'Afrique [2], il est exceptionnel dans la race noire, moins exigeant en température, son incubation dure 10 à 20 jours.

- *Plasmodium ovale*, est très proche de *P. vivax* avec lequel il a longtemps été confondu.

- *Plasmodium knowlesi* a été découvert en Malaisie et est responsable du paludisme chez le singe. Il a été rencontré chez des humains dans certaines zones de forêts d'Asie du Sud-est [11].

➤ Vecteur

Plus de 50 espèces d'anophèles assurent la transmission des plasmodies de manière plus ou moins efficace suivant leur anthropophilie et leur longévité. Chaque espèce a une aire de distribution bien délimitée dans l'ensemble

biogéographique mondial. Les principaux vecteurs du paludisme au Mali sont le complexe *Anophèles gambiaes* (*A. gambiaes* et *A. arabiensis*) et *Anophèles funestus*. A l'intérieur de cette aire de distribution les facteurs climatiques, édaphiques et humains conditionnent la présence des gîtes larvaires, donc de la densité et de la dynamique des populations d'anophèles vecteurs. Les vecteurs du paludisme humain appartiennent tous au genre *Anophèles*.

1.4. Cycle des plasmodies

On distingue deux parties dans ce cycle : une multiplication asexuée qui se déroule chez l'homme et une multiplication sexuée qui se déroule chez l'anophèle femelle.

➤ **Cycle asexué** : Il comprend deux phases :

- **La phase hépatique** : l'homme est contaminé par la piqûre infectante de l'anophèle femelle qui injecte avec sa salive dans le tissu sous-cutané des milliers de parasites sous forme de sporozoïtes. Ces sporozoïtes gagnent le foie en moins de 45 minutes. Au niveau du foie s'effectue une schizogonie hépatocytaire. Des sporozoïtes de *P. vivax* et *P. ovale* peuvent rester quiescents dans les hépatocytes sans se transformer en schizontes (cryptozoïtes). Les schizontes hépatiques grossissent leurs noyaux, se divisent et en une semaine environ, évoluent en schizontes matures contenant quelques milliers de noyaux (corps bleus). L'éclatement du schizonte hépatique libère de nombreux mérozoïtes qui pour la plupart s'embolisent dans les capillaires sinusoïdes et passent dans la circulation sanguine amorçant les premières schizogonies sanguines. Cette phase dure en moyenne 6 jours pour *P. falciparum*, 8 jours pour *P. vivax*, 9 jours pour *P. ovale*, et 13 jours pour *P. malariae*.

- **La phase sanguine** : Dans le sang s'effectue le cycle érythrocytaire. Les mérozoïtes libérés après l'éclatement des schizontes hépatiques pénètrent dans les hématies hôtes et s'y transforment en trophozoïtes. La multiplication des noyaux dont chacun s'entoure d'une plage cytoplasmique forme un schizonte mûre ou corps en rosace qui en s'éclatant libère de nouveaux mérozoïtes qui vont infecter de nouvelles hématies et le cycle recommence. Après une

semaine environ, certains mérozoïtes vont évoluer au stade sexué : les gamétocytes.

➤ **Le cycle sexué** : se passe chez l'anophèle

En prenant son repas sanguin sur une personne infectée, l'anophèle femelle absorbe des gamétocytes qui assurent la poursuite du cycle. Dans l'estomac du moustique les gamétocytes se transforment en gamètes femelle et mâle.

La fécondation du gamète femelle par le gamète mâle donne un œuf mobile (ookinète) qui traverse la paroi de l'estomac de l'anophèle et se fixe au niveau de sa face externe formant l'oocyste dans lequel s'individualisent les sporozoïtes. Libérés par l'éclatement de l'oocyste, ces derniers gagnent avec prédilection les glandes salivaires de l'anophèle qui les réinjecte à l'homme.

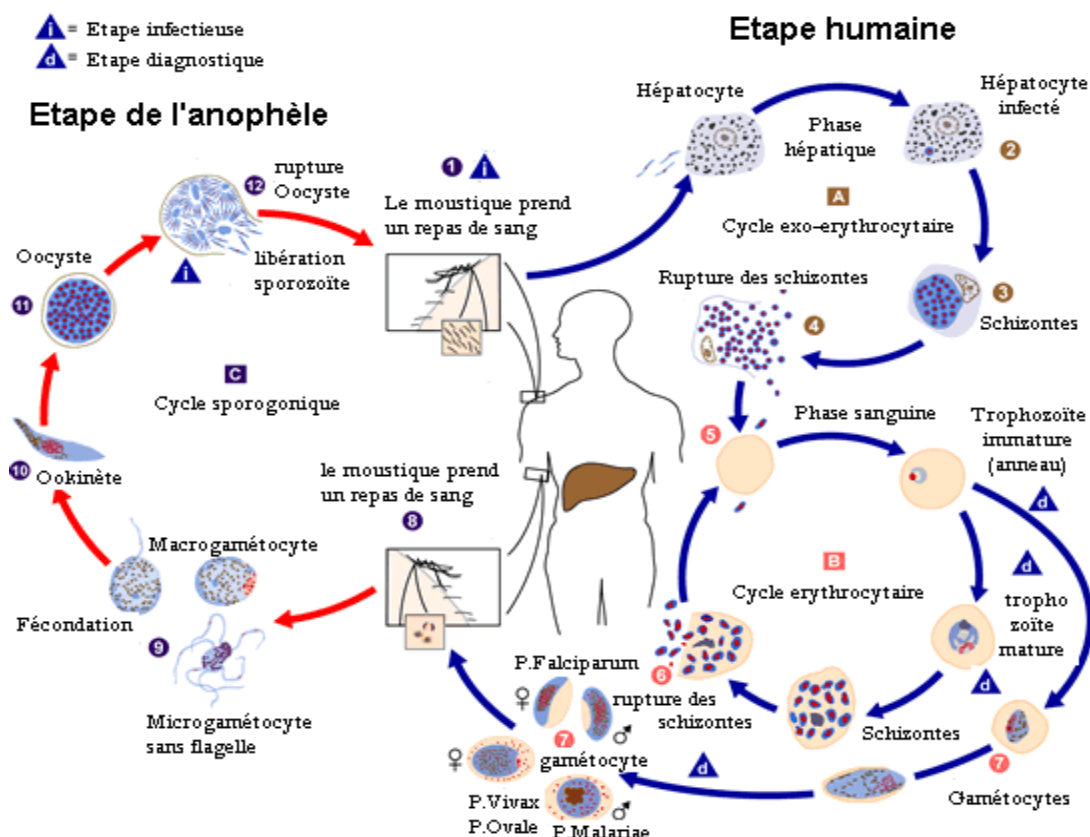


Figure 1 : Cycle de développement du Plasmodium

Source: <http://www.cdc.gov/dpdx/>.

1.5. Physiopathologie du paludisme

Comme le montre son cycle de vie, *P. falciparum* survit chez le moustique où sa reproduction sexuée s'effectue, et le moustique vecteur transmet le parasite

à l'hôte humain. Chez l'homme le parasite a besoin de proliférer et de survivre sans être détruit par la réponse immunitaire de l'hôte.

➤ **Accès palustre simple**

Définition : L'accès simple se définit par la présence dans le sang de *plasmodium*, associé au signe suivant : fièvre, céphalée, vomissement, diarrhée, triade frisson, chaleur, sueur. Cette description classique est en réalité rarement retrouvée, la symptomatologie étant le plus souvent atypique [12]. La symptomatologie dépend de plusieurs facteurs liés soit au malade (niveau d'immunité) soit surtout au parasite (espèce plasmodiale, intensité de l'infestation, mode d'inoculation, phase de développement parasitaire). Pour toutes les espèces plasmodiales le cycle hépatique est asymptomatique, et les manifestations cliniques s'observent au cours de la phase sanguine.

La fièvre : le facteur déclenchant est la libération, au moment de l'éclatement des hématies parasitées, de pigment malarique (hémozoïne) qui se comporte comme une véritable substance pyrogène agissant sur les centres bulbaires de la thermorégulation. Au niveau de chaque hématie parasitée, la quantité d'hémozoïne est évidemment négligeable ; mais lorsque la parasitémie atteint un certain seuil, le nombre d'hématies parasitées qui éclatent en libérant du pigment pyrogène est suffisant pour entraîner les crises fébriles.

L'anémie : est en relation avec la destruction des globules rouges parasités et avec l'opsonisation d'hématies normales et la présence d'auto anticorps anti-érythrocytaires. De plus, les globules rouges parasités présentent, à leur surface, des antigènes induisant l'action des anticorps et l'hémolyse.

L'hépatomégalie et surtout **la splénomégalie** sont la conséquence de l'hyperactivité du système monocyte macrophage chargé de débarrasser l'organisme aussi bien du pigment malarique que des débris érythrocytaires.

➤ **Paludisme viscéral évolutif**

Il survient généralement chez les enfants de 2 à 5 ans non encore prémunis vivant en zones d'endémie soumis à des infections palustres répétées. La symptomatologie est subaiguë ou chronique. Elle associe une anémie, avec pâleur, asthénie et anorexie. La splénomégalie est constante, modérée. On peut

noter aussi une fièvre modérée. La recherche d'hématozoaires est positive par intermittence avec parasitémie faible, la sérologie anti-palustre montre un taux élevé des anticorps (IgG). La réponse au traitement est assez rapide.

➤ **Fièvre bilieuse hémoglobinurique**

Elle est due à une hémolyse intra vasculaire aiguë en rapport avec des prises de quinine dans une zone d'endémie à *P. falciparum*, mais aussi la méfloquine et l'halofantrine. Elle se manifeste par : une fièvre élevée, hémoglobinurie macroscopique (urines couleur porto), un choc, une anémie aiguë, une insuffisance rénale aiguë. Le pronostic est sévère avec 30% de décès.

➤ **Paludisme grave et compliqué**

Le paludisme grave se définit comme une goutte épaisse positive à *P. falciparum*, associé à un ou plusieurs des signes cités : prostration, trouble de la conscience, détresse respiratoire, convulsions répétées, état de choc, saignement anormal, ictère avec un taux de bilirubine $> 50\mu\text{mol/l}$, hémoglobinurie, anémie profonde ($\text{ht} \leq 15\%$ ou $\text{Hb} < 5\text{g/dl}$), insuffisance rénale avec excrétion urinaire inférieure à 12 ml/24h, œdème pulmonaire aigu, hypoglycémie ($< 2,2 \text{ mmol/L}$), Hyperlactémie avec un taux de lactates plasmatiques $> 5\text{mmol/l}$, hyperparasitémie (≥ 200.000 trophozoïdes/ μl), hémoglobinurie macroscopique, acidose métabolique avec un taux de bicarbonates plasmatiques $< 15 \text{ mmol/L}$ [13].

P. falciparum est responsable de paludisme grave et compliqué par sa schizogonie dans les viscères profonds (cerveau). Sa multiplication dans les capillaires des organes (cerveau, rein, foie) entraîne une anoxie tissulaire par anémie hémolytique, des troubles de la microcirculation et des phénomènes cytotoxiques. Il existe à la surface des hématies parasitées des protubérances particulières appelées "knobs" qui provoquerait une adhérence des cellules parasitées à l'endothélium vasculaire et le ralentissement du flux capillaire. La physiopathologie du paludisme grave peut être expliquée par quatre mécanismes :

- une augmentation de la perméabilité de la barrière hemo-méningée entraînant une fuite du liquide céphalorachidien et un œdème cérébral ;

- un phénomène immuno-pathologique avec dépôt de complexe immunitaire ;
- des mécanismes toxiques dans lesquels des cytokines telles que le TNF (tumor necrosis factor) seraient impliquées. Des cytokines telles que le TNF alpha augmentent l'expression des molécules d'adhésion et favorisent la cytoadhérence et l'obstruction de la microcirculation.
- la cytoadhérence des hématies parasitées et leur séquestration dans les vaisseaux.

➤ **Autres formes cliniques particulières**

★ **Paludisme congénital**

Le paludisme congénital se définit comme la présence du Plasmodium dans le sang du cordon ou du nouveau-né. Cependant son mécanisme est moins élucidé. Il apparaît après un délai variable de 5 à 60 jours après l'accouchement et le signe clinique constant est la fièvre [14].

★ **Paludisme transfusionnel**

Il survient 2 à 3 semaines après une transfusion. Le dépistage des anticorps antipaludiques se fait par la technique d'immunofluorescence indirecte.

1.6. Diagnostic parasitologique

Il s'agit d'un diagnostic d'urgence chez les groupes à risque. Il consiste à la mise en évidence des formes sanguines du parasite. Le prélèvement sanguin doit être effectué le plus près possible du pic thermique.

❖ **Méthodes de mise en évidence directe du parasite**

➤ **Le Frottis mince (FM)**

Le frottis mince est utilisé dans le diagnostic d'urgence du paludisme. Une goutte de sang prélevée au bout du 3ème ou 4ème doigt est déposée à l'extrémité d'une lame porte-objet, une deuxième lame qu'on incline d'environ 45° est amenée au contact de cette goutte de sang, puis dans un mouvement régulier et ininterrompu, la lame inclinée entraîne derrière elle ce sang qui s'étale en couche unistratifiée. La préparation est d'abord fixée au méthanol absolu pendant quelques secondes avant d'être colorée au Giemsa. Ce frottis montre des parasites dont le cytoplasme est bleu et le noyau rouge. La lecture est faite au microscope optique à l'immersion à l'objectif 100. Les

résultats sont exprimés en pourcentage d'hématies parasites. Les avantages de cette technique sont sa rapidité et la mise en évidence de l'espèce plasmodiale en cause. Cependant, le frottis mince ne permet pas de détecter les faibles parasitémiés (moins de 200 parasites par μ l de sang)

➤ **La Goutte épaisse (GE)**

C'est une technique de microconcentration sur lame. Une petite goutte de sang prélevée au troisième ou au quatrième doigt est déposée au milieu d'une lame porte-objet. Avec le bout d'une seconde lame, la goutte est uniformément étalée sur une surface de 1 à 1,5 cm de diamètre. Elle est colorée après séchage à la température ambiante au Giemsa dilué à 10% pendant 15 à 20 mn et lue au microscope à l'objectif 100. Elle doit être effectuée par un technicien spécialisé. Son principal avantage est le diagnostic de la maladie dans les cas de faibles parasitémiés (10 à 20 parasites par μ l de sang). Colorée au Giemsa, elle montre les parasites sans le repère de l'hématie. Les résultats sont exprimés en nombre de parasites par μ l de sang. Elle permet également de déterminer la charge parasitaire et d'établir des indices épidémiologiques (l'indice plasmodique et l'indice gamétocytaire). Il est à signaler que ces deux techniques (GE et FM) demandent un microscopiste bien expérimenté et une source de lumière sans oublier un temps d'exécution plus long (au moins 90 mn pour le résultat d'une Goutte épaisse et 15 à 20 mn pour celui d'un frottis mince).

➤ **Quantitative Buffy Coat (QBC)**

C'est une méthode d'immunofluorescence directe. Le principe consiste à concentrer une petite quantité de sang par centrifugation dans un micro tube à hématocrite. Les globules rouges parasités se trouvent aussi à l'interface des leucocytes des hématies saines. L'acridine orange, agent intercalant spécifique des acides nucléiques, contenu dans les noyaux fait apparaître le parasite avec une fluorescence verte ou jaune-orangée à l'intérieur de l'hématie. Le QBC a une sensibilité supérieure à celle de la goutte épaisse. Elle est intéressante dans les formes pauci-parasitaires, dans la surveillance de l'évolution de l'infection. Son principal inconvénient est la difficulté d'établir un diagnostic

d'espèce. En outre la nécessité d'avoir un microscope à fluorescence peut limiter les petites structures dans l'acquisition de cet appareil.

❖ *Méthodes de mise en évidence indirecte des constituants parasitaires*

➤ **Tests rapides: (SD BIOLINE Malaria Ag P. fct'OptiMAL-IT)**

Des bandelettes de nitrocellulose sont utilisées pour réaliser la détection de protéines (pfHPR2) pour le test de Parasight F ou d'enzymes parasitaires (pLDH) pour le test d'OptiMAL-IT. Ces tests ne nécessitent qu'un minimum de matériel et une formation minimale. Leur interprétation est simple.

★ **SD BIOLINE Malaria Ag P.f**

Il consiste en la recherche dans le sang total de l'antigène protéique de type II riche en histidine (HPRII) de *Plasmodium falciparum*. La protéine pfHPR2 (*P. falciparum* Histidine rich proteine 2) est relativement spécifique de ce parasite. L'utilisation de bandelettes sur lesquelles ont été fixées des anticorps anti-pfHPR2 donne une idée assez exacte de la présence ou non de parasite dans l'échantillon. Ce test a l'avantage d'être manuel et rapide pour le diagnostic du paludisme à *P falciparum*. Le kit est transportable partout, manipulable par un non spécialiste. Cependant, il n'apporte pas de données quantitatives. D'autre part, ce test reste positif de nombreux jours après la disparition des parasites.



Figure 2 : Test de dépistage optimal pour *falciparum*

http://www.standardia.com/fr/home/product/rapid/infectious-disease/Malaria_Ag_Pf-HRP2.html

★ L'OptiMAL-IT

C'est un test dont le principe est basé sur la détection d'une enzyme métabolique intracellulaire abondante produite par les plasmodies dans le sang. Cette enzyme, la lactate déshydrogénase plasmodiale (pLDH), est produite par les formes asexuées (trophozoïtes) et sexuées (gamétocytes) du parasite et elle est rapidement détectée par une série d'anticorps monoclonaux dirigés contre des isoformes de l'enzyme permettant de faire une différenciation entre les espèces plasmodiales. Il n'y a aucune réaction croisée avec la LDH humaine. Des bandelettes de nitrocellulose sont utilisées pour réaliser la détection de la pLDH. Ce test est plus performant que le précédent et mieux adapté au diagnostic de l'infection aiguë. Malgré le confort et les qualités de ces tests, ils ne peuvent remplacer à 100% l'observation microscopique d'un frottis sanguin et d'une goutte épaisse.

➤ La Polymérase Chain Réaction (PCR)

Elle consiste à synthétiser *in vitro* en plusieurs copies un fragment de gène codant pour une protéine du *plasmodium* en utilisant deux amorces spécifiques. Cette technique est très spécifique et très sensible. Elle peut en plus du diagnostic permettre d'identifier les parasites résistants à certains médicaments par la recherche de mutations spécifiques. Les inconvénients de cette technique sont : sa lourdeur, son coût et le fait qu'elle nécessite un personnel qualifié et un équipement approprié.

➤ Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA)

La méthode immuno-enzymatique ELISA (littéralement « dosage d'immuno-absorption par enzyme liée », c'est-à-dire dosage immuno-enzymatique sur support solide) est un examen de laboratoire. Cette méthode est principalement utilisée en immunologie pour détecter la présence d'un anticorps ou d'un antigène dans un échantillon. Ce test entre dans le cadre plus général des dosages immuno-enzymatique, dans lequel le dosage est couplé à une réaction catalysée par une enzyme qui libère un composant coloré suivi par une spectroscopie.

L'ELISA est une technique immunologique utilisant un ou deux anticorps. L'un est de ceux-ci est spécifique de l'antigène, tandis que l'autre réagit aux complexe immuns (antigène-anticorps) et est couplé à une enzyme. Cet anticorps secondaire, responsable du nom de la technique, peut aussi causer l'émission d'un signal par un substrat chromogène ou fluorescence.

L'ELISA pouvant être utilisé tant pour évaluer la présence d'un antigène que celle d'un anticorps dans un échantillon, c'est un outil efficace à la fois pour déterminer des concentrations sériques d'anticorps (comme pour le test du VIH ou le virus du nil), que pour détecter la présence d'un antigène. Il a également trouvé des applications dans l'industrie alimentaire, pour détecter des allergènes alimentaires, comme le lait, les cacahuètes, les noix et les œufs. C'est un test simple, facile d'emploi et peu coûteux. Il est limité par la disponibilité en anticorps spécifique.

1.7. Traitement

➤ Définition des antipaludiques

Les antipaludiques (ATP) sont des substances actives utilisées dans le traitement ou la prévention du paludisme.

➤ Principaux médicaments antipaludiques en usage en Afrique au sud du Sahara

Les antipaludiques les plus fréquemment utilisés en Afrique au sud du Sahara sont : les sels de quinine, la Sulfadoxine- Pyrimethamine, et les combinaisons thérapeutiques à base des dérivés d'artémisinine avec l'amodiaquine, la luméfantrine et la méfloquine.

★ Les sels de quinine

Les sels de quinine sont les antipaludiques de référence dans la prise en charge des formes graves de paludisme. Elles exercent une action schizonticide sanguine rapide sur toutes les espèces plasmodiales. Elles n'ont aucune activité sur les formes intrahépatiques et elles sont recommandées à la dose de 30 mg de quinine base/kg/jour, répartie en 3 administrations espacées de 8h. Une dose de charge de 20 mg/kg administrée en 4 heures est recommandée. La durée du traitement est d'au moins 7 jours.

La voie d'administration préférentielle est IV, avec relais per os à partir de J3, quand les symptômes s'améliorent. La voie IM est possible mais présente des risques de paralysie du nerf sciatique. Il existe enfin des formulations adaptées à la voie IR.

★ La Sulfadoxine- Pyrimethamine

La Sulfadoxine bloque la dihydroptéroate synthétase qui transforme le para-amino-benzoate en dihydrofolate alors que la pyriméthamine bloque la dihydrofolate réductase qui transforme le dihydrofolate en tétrahydrofolate actif comme donneur de radicaux monocarbonés pour la synthèse des bases des purines de l'ADN des parasites. Cette action synergique schizonticide détruit les formes intra-érythrocytaires des 4 espèces (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* et *P. ovale*).

★ Les dérivés de l'artémisinine

L'Artémisinine ou Quingaoshu, est une lactone (Sesquiterpène lactone) extraite des feuilles de plante *Artemisia annua*, issue de la pharmacopée traditionnelle chinoise. Son activité schizontocide puissante s'exerce sur toutes les formes asexuées des plasmodies : L'artémisinine agit en inhibant la PfATPase 6, une adénosine tri phosphatase calcium dépendante essentielle au parasite, action dont résulte la libération de radicaux libres toxiques pour le parasite (pont endoperoxide). Les dérivés semi-synthétiques de l'artémisinine ont une activité schizontocide supérieure à celle de l'artémisinine : la dihydroartémisinine, l'artémether et l'artesunate sont les plus utilisées. Leur action est très rapide, extrêmement efficace mais de courte durée. Pour cette raison, ces médicaments doivent être exclusivement utilisés en combinaison thérapeutique avec d'autres antipaludiques. L'artémisinine et ses dérivés présentent plusieurs avantages. Ils réalisent une diminution de la biomasse parasitaire par un facteur de 10^4 à chaque cycle asexué de 36 à 48h, soit une réduction de 10^6 à 10^8 de 3 jours de traitement. La résolution des symptômes est rapide 48 h ou moins et leur tolérance est bonne. Ils ont une activité gamétocytocide réduisant ainsi le risque de transmission du paludisme.

Leur courte durée de vie dans l'organisme constitue leur limitation majeure. Ces avantages et inconvénients expliquent la recommandation de les utiliser toujours en combinaisons thérapeutiques, en associant avec des antipaludiques.

★ **Combinaison thérapeutique à base d'artémisinine (CTA)**

La combinaison Artesunate (AS) + Amodiaquine (AQ) et la combinaison Artémether (AT) + Luméfantrine (LU) sont retenues pour le traitement du paludisme simple par le PNLP au Mali.

★ **Combinaisons thérapeutiques sans artémisinine**

-  Chloroquine+sulfadoxine-pyriméthamine
-  Sulfadoxine-pyriméthamine + méfloquine : FANSIMEF® (utilisé en Asie du sud-est).
-  Atovaquone + proguanil : (MALARONE®)
-  Quinine + doxycycline
-  Chloroquine + proguanil : SAVARINE® (utilisée en chimio prophylaxie seulement)
-  Amodiaquine + sulfadoxine-pyriméthamine.

Au Mali l'Amodiaquine + sulfadoxine-pyriméthamine est utilisée dans la chimio prévention du paludisme saisonnier CPS).

2. Anémie

2.1. Définition de l'anémie

Elle se définit par une baisse absolue de la masse totale de l'hémoglobine corpusculaire circulante. L'hémoglobine est une protéine qui existe à l'intérieur des globules rouges, elle transporte l'oxygène des poumons vers les organes profonds et tissus. L'anémie est mesurée par le taux d'hémoglobine et la numération des globules rouges [15], Selon l'O.M. S l'anémie correspond à un taux d'hémoglobine inférieur à :

- 13 g / dl chez l'homme adulte,
- 12 g / dl chez la femme adulte,
- 11 g / dl chez la femme enceinte,

- 12 g / dl chez les enfants de 6- 14 ans,
- 11 g / dl chez les enfants de 6 mois -6 ans,
- 14 g / dl chez le nouveau -né [15].

2.2. Signes cliniques

La diminution de la capacité du sang à transporter l'oxygène jusqu'aux tissus entraîne une hypoxie tissulaire et la mise en jeu par l'organisme, de mécanismes d'adaptation. Ainsi l'hypoxie tissulaire est responsable de l'asthénie, de céphalées, de vertiges, de bourdonnements d'oreille, de dyspnée d'effort, de pâleur cutanéomuqueuse et de troubles liés à une insuffisance cérébrale, à une ischémie myocardique ou à une insuffisance cardiaque chez le sujet âgé. Les mécanismes d'adaptation sont responsables de polypnée superficielle, de tachycardie, d'hypotension et de souffle systolique fonctionnel. La symptomatologie dépend en fait de l'intensité de l'anémie, de sa rapidité d'installation, de l'âge du patient et de son état cardio-vasculaire.

2.3. Classification de l'anémie

Les anémies peuvent être classées selon le mécanisme de l'anémie :

➤ Les anémies centrales :

Elles sont dues à un défaut de production médullaire initiale et sont arégénératives. Elles peuvent être observées en cas d'anomalie de structure de la moelle hématopoïétique, stimulation hormonale diminuée (EPO), anémie par carence martiale (ferriprive) : malabsorption du fer, malnutrition, saignements occultes (digestifs accrue), menstruations abondantes. La carence en vitamines ou folates et la production d'inhibiteurs de l'érythropoïèse, comme dans les inflammations sont responsables des anémies centrales.

➤ Les anémies périphériques:

Elles surviennent par perte périphérique excessive et sont régénératives. Les causes des anémies périphériques sont :

- les hémorragies abondantes,
- l'hémolyse : l'hémolyse est un phénomène irréversible conduisant à la destruction des globules rouges et la libération de leur contenu dans la circulation générale,

- les causes extra-corpusculaires : il y'a les causes immunologiques (les maladies auto-immunes : la maladie hémolytique du nouveau-né), parasitaires (paludisme, ankylostome, leishmanie etc.), médicamenteuses et toxiques, et la splénomégalie,
- les causes corpusculaires : sont dues à des anomalies liées aux globules rouges : anomalies de l'hémoglobine (la drépanocytose, thalassémie), de déficit en G6PD et anomalies de la membrane (ovalocytose).

Les anémies peuvent être classées également selon leurs caractéristiques sur la numération globulaire :

- **Les anémies microcytaires hypochromes** : ce sont des anémies au cours desquelles le V.G.M < 80fl et T.C.M.H < 27pg /cellule ou C.C.M.H < 32g/dl,
- **Les anémies normocytaires normochromes** : elles sont caractérisées par un V.G.M normal, T.C.M.H et C.C.M.H normales,
- **Anémies macrocytaires normochromes** : elles sont caractérisées par une augmentation du V.G.M, C.C.M.H et T.C.M.H normales.

2.4. Physiopathologie de l'anémie palustre :

L'anémie palustre est définie comme la diminution de la concentration de l'hémoglobine en l'absence d'hémodilution. La physiopathologie de l'anémie est multifactorielle, impliquant à la fois :

- Une destruction massive des globules rouges non compensée par la production médullaire. Ce phénomène entraîne une augmentation du nombre des réticulocytes, témoignant l'effort médullaire qui tend à compenser l'excès de pertes ; et on parle d'anémie périphérique et elle est régénérative,
- Une diminution d'activité de l'érythropoïèse due à un défaut de production de la moelle osseuse ou une anomalie de la lignée érythroblastique. Dans ce cas les réticulocytes sont diminués en nombre et on parle d'anémie centrale et elle est arégénératives [16].

➤ ***Les Mécanismes de l'anémie palustre :***

Normalement, les globules rouges circulant sont maintenus en équilibre entre la production des globules rouges par la moelle osseuse et leur éventuelle destruction dans le système réticulo-endothélial. Quotidiennement 1% de ces globules rouges sont détruits et remplacés par un nombre approprié de réticulocytes.

L'anémie survient lorsque la production des réticulocytes est défectueuse au niveau de la moelle osseuse ou une perte massive des globules rouges par hémolyse. Ainsi, l'anémie est en relation avec la destruction des globules rouges parasités par les plasmodies et l'opsonisation d'hématies normales et par la présence d'éventuels auto-anticorps anti-érythrocytaires. Le développement intracellulaire du plasmodium modifie le métabolisme et les propriétés de la membrane érythrocytaire, entraînant ainsi la lyse des hématies au cours de l'accès palustre. De plus les globules rouges parasités présentent à leur surface des antigènes d'origine parasitaires permettant l'action des anticorps spécifiques. L'intensité de l'anémie au cours du paludisme varie selon l'espèce Plasmodiales en cause [17] elle est forte avec *P. falciparum* qui infecte toutes les hématies ; Les principaux mécanismes impliqués dans la physiopathologie de l'anémie palustre à *P. falciparum* sont multiples et diverses :

- l'hémolyse ;
- l'hypersplénisme ;
- l'altération de la pompe Na⁺ ;
- la fièvre bilieuse hémoglobinurie ;
- la dysérythropoïèse.

2.5. Méthodes de détection de l'anémie au laboratoire

Un hémogramme systématique est réalisé. Un échantillon de sang veineux prélevé au niveau du bras est réalisé et évalué. L'anémie est détectée si le taux d'hémoglobine est inférieur à la normale. Il peut y avoir des globules rouges moins que la normale. Au microscope, les hématies peuvent apparaître plus petits et plus pâles que d'habitude en cas d'anémie ferriprive.

La petite taille est appelée anémie microcytaire. La carence en vitamine B12 et folates peut entraîner des hématies pâles avec une grande taille : on parle alors d'anémie macrocytaire.

La ferritine est une protéine qui stocke le fer. Si le taux sanguin de ferritine est faible, il indique fer faible dans le stock de l'organisme et aide à déceler l'anémie ferriprive. Des tests sanguins comprennent le volume globulaire moyen (VGM) et la largeur de distribution des globules rouges. Le Nombre de réticulocytes est une mesure des hématies jeunes. Cela montre que si la production des globules rouge est à un niveau normal.

2.6. Traitement et prévention de l'anémie

❖ Traitement de l'anémie

Le traitement de l'anémie consiste à traiter l'état du faible taux d'hémoglobine et de globules rouges dans le sang ainsi que de détecter et de traiter le processus de la maladie qui a conduit à l'anémie. Sauf si la cause sous-jacente de l'anémie, est une perte continue de sang, une anémie hémolytique, une carence en fer ou l'état d'augmentation de la demande comme la grossesse, sont évalués et gérés, le traitement demeure incomplet.

Le traitement de l'anémie dépend du type d'anémie :

➤ Traitement de l'anémie par carence en fer

Cela implique généralement des suppléments de fer pour remplacer le manque d'apport en fer dans l'alimentation ou perte excessive de fer. Le supplément le plus couramment prescrit est le sulfate ferreux, avec deux ou trois prises par jour. Une autre alternative est le gluconate ferreux. Le Fer peut être remplacé en adoptant un régime riche en fer. Cela inclut les légumes à feuilles vert foncé, le haricot, la viande, noix, abricots, raisins secs, dates, etc. Le Calcium, le café, le thé, les antiacides réduisent l'absorption du fer et devraient être évités.

Les suppléments de vitamine C aide à absorber mieux le fer. Le Patient est contrôlé après deux à quatre semaines de traitement pour voir s'il y a une réponse.

➤ **Traitement de l'anémie par carence en vitamine B12**

Cela peut être traité par des injections de vitamine B12. La vitamine est sous la forme d'une substance appelée hydroxocobalamine. Les injections sont données sur deux jours pendant deux semaines. S'il y a un manque alimentaire de vitamine B12, les comprimés peuvent être prescrits. On trouve également la Vitamine B12 dans la viande, le lait, les œufs.

➤ **Traitement de l'anémie due à une carence en folates**

En cas d'anémie par carence d'acide folique les comprimés sont prescrits. Les comprimés de folates sont habituellement prescrits sur une longue durée avec des suppléments de vitamine B12. C'est parce que le traitement à l'acide folique peut parfois améliorer les symptômes d'une carence de vitamine B12 masquée. Les Folates se trouvent dans le chou vert, la noix, les légumes verts, etc.

➤ **Traitement de l'anémie sévère**

Lorsque l'anémie est très sévère, une transfusion de sang est souvent nécessaire.

➤ **Traitement de l'anémie falciforme**

Les Patients atteints de drépanocytose ont besoin d'une alimentation saine, des suppléments d'acide folique, vitamines et zinc pour éviter le déclenchement de la crise.

➤ **Traitement de l'anémie due à une infection**

L'anémie causée par une infection s'améliorera habituellement lorsque l'infection est traitée. Cela est particulièrement vrai pour les nouveau-nés atteints d'une infection grave appelée septicémie.

➤ **Traitement de l'anémie pendant la grossesse**

Si la concentration d'hémoglobine est inférieure à 9.0 g/dl on parle alors d'anémie pendant la grossesse. L'anémie est gérée avec une dose orale de 60 à 120 mg de fer par jour. Le Patient est contrôlé après quatre semaines de traitement.

➤ **Traitement de l'anémie due à la moelle osseuse**

Certains médicaments sont prescrits pour stimuler la moelle osseuse pour produire plus de globules rouges. Ceci est utile dans l'anémie aplasique et les leucémies. La transplantation de la moelle osseuse peut-être également utilisée

❖ **Prévention de l'anémie**

Chez les nourrissons et les enfants d'âge préscolaire, l'anémie peut être prévenue en encourageant l'allaitement maternel exclusif des nourrissons (sans liquides supplémentaires) pour quatre à six mois après la naissance.

Pendant le sevrage une source additionnelle de fer (environ 1 mg / kg /jour de fer) devrait être introduit dans les aliments complémentaires. Si l'enfant n'est pas alimenté par le lait maternel, une formule enrichie de fer comme un substituant du lait maternel est recommandée. Les bébés alimentés par le lait maternel qui ont des lacunes de fer, 1 mg /kg/ jour de fer goutte est recommandé si non complétées dans d'autres aliments. Aliments riches en vitamine C (par exemple, des fruits, des légumes et des jus) sont recommandés au-delà de six mois pour augmenter l'absorption du fer. Pour les adolescents la prévention chez les filles et les femmes comprend une alimentation riche en fer. Pendant la grossesse : Une faible dose par voie orale (30 mg par jour) des suppléments de fer lors de la première visite prénatale peut être lancée pour prévenir l'anémie. Les femmes enceintes sont invitées à manger des aliments riches en fer et les aliments qui améliorent l'absorption du fer

3. Les lymphocytes T

Les lymphocytes T, ou cellules T, sont une catégorie de leucocytes qui jouent un grand rôle dans la réponse immunitaire secondaire. « T » est l'abréviation de thymus, l'organe dans lequel leurs développements s'achèvent. Ils sont responsables de l'immunité cellulaire : Les cellules infectées par un virus par exemple, ou les cellules cancéreuses reconnues comme étrangères à l'organisme (c'est-à-dire distinctes des cellules que les lymphocytes T ont appris à tolérer lors de leur maturation) sont détruites par un mécanisme complexe. Les lymphocytes T expriment tous le marqueur membranaire CD3.

3.1. Morphologie

Au microscope, les lymphocytes apparaissent comme des cellules ovoïdes, nucléées, dont le noyau de grande taille (environ 7 μm , soit le diamètre d'un globule rouge) occupe quasiment tout le corps cellulaire. Sa chromatine est disposée en mottes.

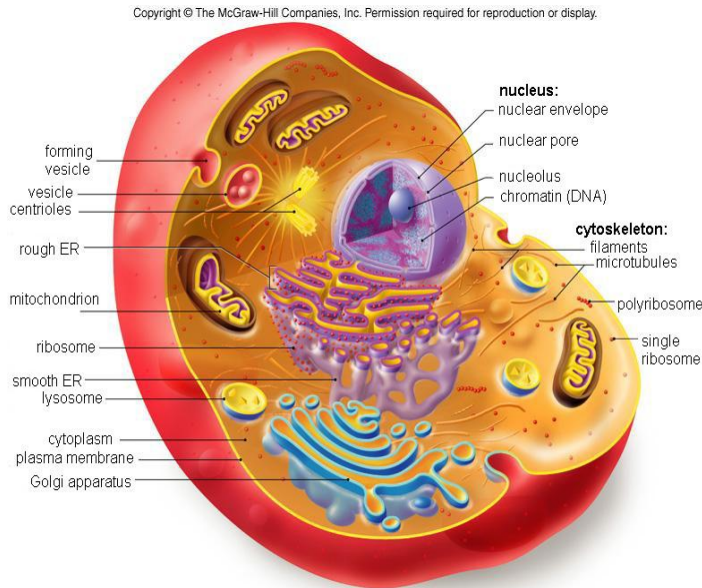


Figure3 : Structure du lymphocyte T

[<https://fr.wikipedia.org/wiki/Lymphocyte#Structure>]

3.2. Origine et maturation

La formation des lymphocytes T débute chez l'adulte dans la moelle osseuse et chez l'embryon dans le foie fœtal. Un progéniteur T dont on ne connaît toujours pas la nature, quitte la moelle osseuse ou le foie fœtal et colonise le thymus. Ce progéniteur pourrait être la cellule souche hématopoïétique, le MPP (*multipotent progenitor*), le LMPP (*lympho-myeloid prime progenitor*), le ELP (*early lymphoid progenitor*) ou le CLP (*common lymphoid progenitor*). Il semblerait que le progéniteur doit exprimer le CCR9 (récepteur de la chimiokine CCL25) pour entrer dans le thymus.

Au sein du thymus on distingue avec les marqueurs CD8 et CD4 trois stades successifs : un stade double négatif DN (CD4⁻ CD8⁻), un stade double positif DP (CD4⁺ CD8⁺) et un stade simple positif (CD4⁺ CD8⁻ ou CD4⁻ CD8⁺). Au sein des doubles négatifs avec les marqueurs CD44 et CD25 on observe quatre populations : DN1 CD44⁺ CD25⁻, DN2 CD44⁺ CD25⁺, DN3 CD44⁻

CD25+ et DN4 CD44- CD25-. En résumé, au sein du thymus on a successivement les stades : DN1 DN2 DN3 DN4 double positifs et simple positif. Les cellules simples positives se différencient en lymphocyte T naïfs. La spermine (une des polyamines très courantes) semble jouer un rôle important pour les thymocytes.

➤ **Entrée des progénitures T dans le thymus**

La colonisation du thymus par les progénitures lymphoïdes commence au jour de l'embryogenèse chez la souris et dans la huitième semaine de gestation dans l'espèce humaine, et est dirigé par au moins deux différentes voies :

Une voie indépendante du système vasculaire, qui arrive probablement pendant les premiers stades du développement embryonnaire, avant la vascularisation du thymus. Cette colonisation indépendante du thymus fœtal serait régulée par l'attraction chimiotactique des progénitures lymphoïdes vers le primordium thymique. Deux chimiokines en particulier, CC-chemokine ligand 21 (CCL21) et CCL25, qui sont exprimés par le primordium fœtal parmi d'autres chimiokines auraient des rôles partiels mais significatifs dans ce stade précoce de la colonisation thymique. Il a également été montré que CXC-chemokine ligand 12 (CXCL12) et son récepteur CXCR4 ne sont pas impliqués dans la colonisation thymique.

Une voie dépendante du système vasculaire, qui arrive probablement dans les stades tardifs de l'embryogenèse et de façon post-natale, après la vascularisation. Dans le thymus post-natal, les progéniteurs lymphoïdes entrent dans le thymus par transmigration du sang vers la jonction cortico-médullaire, où le système vasculaire est bien développé. Si le rôle des chimiokines dans la colonisation du thymus post-natal n'est pas très clair, il semblerait que chez l'adulte cette colonisation soit régulée par l'interaction adhésive entre le platelet (P)-selectin glycoprotein ligand 1 (PSGL1), qui est exprimé par les progéniteurs lymphoïdes circulants, et la P-selectin, qui est exprimée par les cellules de l'endothélium thymique.

L'entrée des progéniteurs lymphoïdes dans le thymus n'est pas un événement continu mais périodique qui se produit par vagues pendant l'embryogenèse et à

l'âge adulte. Pendant l'embryogenèse, les vagues distinctes de cellules ayant colonisé le thymus donnent naissance à des lignées de lymphocytes T $\gamma\delta$ avec différentes utilisations des chaînes V γ et V δ du TCR, indiquant que les progéniteurs qui colonisent le thymus fœtal diffèrent dans leur potentiel développemental des progéniteurs lymphoïdes T qui entrent dans le thymus post-natal.

➤ **Formation du cortex et trafic sortant**

A la suite de leur entrée dans le thymus, les progéniteurs lymphoïdes commencent leur développement en lymphocytes T par une voie développementale communément identifiée par l'expression de CD25 et de CD44, jusqu'au stade double-négatif 3 (DN3), caractérisé par le profil d'expression CD4⁻ CD8⁻ CD25⁺ CD44⁻. Seules les cellules qui réussissent le réarrangement du gène codant pour la chaîne β du TCR sont sélectionnées pour une différenciation future après ce stade DN3. Le développement initial des thymocytes jusqu'au stade DN3 est promu par la voie Notch et ses ligands Delta, et est supporté par des signaux délivrés par l'interleukine-7 (IL-7), qui proviennent des cellules épithéliales du cortex thymique (cTECs).

Le long de cette voie développementale, les thymocytes DN immatures promeuvent la différenciation des cellules stromales thymiques et déclenchent la formation de l'environnement cortico-épithélial du thymus. Chez les souris dont le développement thymique au-delà du stade DN1 est déficient, les cellules épithéliales thymiques (TECs) arrêtent leur développement dans un stade immature, dans lequel elles expriment à la fois la kératine 5 et la kératine 8. Elles sont alors incapables de se différencier en cTECs qui expriment la kératine 8 mais pas la kératine 5. En conséquence, le thymus de ces souris ne forme pas de cortex histologiquement normal et contient de larges cystes. Cependant, chez les souris dont le développement thymique est défaillant après le stade DN3, telles que les souris déficientes pour le gène activant la recombinaison 1 (RAG-1), le cortex et les cTECs kératine 5⁻ kératine 8⁺ associées sont normalement générés dans le thymus. Ainsi, la différenciation des thymocytes du stade DN1 au stade DN3 régule la différenciation des

précurseurs TEC en cTECs qui forment l'environnement cortical du thymus. D'une manière concomitante, les thymocytes DN se relocalisent vers l'extérieur, depuis la jonction cortico-médullaire vers la région subcapsulaire du cortex thymique. De nombreux récepteurs de chimiokines, incluant CXCR4, CCR7 et CCR9, sont vraisemblablement impliqués dans le mouvement de ces thymocytes immatures : en effet, les thymocytes DN CXCR4-déficients ne parviennent pas à se diriger efficacement depuis la jonction cortico-médullaire vers le cortex et ne peuvent pas se différencier au-delà des stades DN. De plus, les thymocytes DN2 déficients pour CCR7 (le récepteur de CCL19 et CCL21) s'arrêtent en partie dans la jonction cortico-médullaire. En revanche, si les thymocytes DN2 et DN3 des souris CCR9-déficientes sont distribuées normalement à travers le cortex, ils ne parviennent pas à s'accumuler efficacement dans la région subcapsulaire.

➤ **Sélection positive**

Les lymphocytes doubles positifs migrent dans le cortex thymique, où ils sont mis en contact avec des antigènes peptidiques présentés dans les molécules du CMH des cellules épithéliales du cortex thymique. Seuls les thymocytes qui sont capables de se lier à un complexe CMH-peptide avec suffisamment d'affinité reçoivent un signal de survie. Les autres vont mourir par apoptose et leur débris sera éliminé par des macrophages. Ce phénomène est appelé « sélection positive » car les cellules survivantes sont celles qui ont lié une interaction.

Selon la nature du CMH que leur TCR a pu lier, les lymphocytes doubles positifs perdent l'un des deux marqueurs. Les cellules dont le TCR peut lier des molécules du CMH de classe I gardent le CD8 et perdent le CD4 ; ceux qui lient une molécule de classe II perdent le CD8 et gardent le CD4.

En résumé, on garde les lymphocytes T qui reconnaissent le CMH du soi présentant un peptide.

➤ **Sélection négative**

Les cellules ayant survécu à la sélection positive vont migrer dans la moelle thymique (médulla). Une fois dans la médulla, les thymocytes sont mis à

nouveau en présence de peptides issus du soi, c'est-à-dire des auto-antigènes présentés par les cellules dendritiques ou les cellules épithéliales médullaires complexés avec les molécules du CMH portées par des cellules épithéliales. Cette fois, ce sont les cellules dont le TCR interagit fortement avec les auto-antigènes qui vont mourir par apoptose secondaire à une hyper activation. Comme cette fois se sont les cellules qui ne lient pas d'interaction qui survivent, on parle de sélection négative. C'est ce phénomène qui permet l'élimination précoce de lymphocytes auto-réactifs qui sont la cause de maladies auto-immunes. En résumé on élimine les lymphocytes reconnaissant fortement les peptides du soi présentés par le CMH.

Au moment où les lymphocytes naïfs quittent le thymus, ils sont incapables de réagir à la présence de « leur » peptide.

➤ **Récepteur des cellules T**

Le récepteur des cellules T (TCR) est un récepteur membranaire reconnaissant des peptides antigéniques présentés par la niche peptidique du CMH (de classe I et de classe II). Chaque lymphocyte T possède un TCR unique spécifique d'un peptide antigénique présenté par le CMH. Le TCR est formé de deux chaînes alpha et bêta pour les lymphocytes T alpha-bêta ou gamma-delta pour les lymphocytes T gamma-delta ; ces chaînes appartiennent à la super famille des immunoglobulines.

Chaque chaîne est issue d'une recombinaison génique des fragments VDJ réalisée par les enzymes RAG1 et RAG2 au sein du thymus. La recombinaison des chaînes bêta, gamma, delta débute au stade DN2 (double négatif, DN) et se poursuit jusqu'au stade DN3. Si les thymocytes réussissent le réarrangement de la chaîne bêta (le TCR gamma-delta est réarrangé au stade DN3) les cellules se différencient alors en DN4 puis en double positif (cellules CD4⁺ et CD8⁺). Au stade double positif les cellules réarrangent la chaîne alpha du TCR puis subissent la sélection thymique.

3.3. Sous population de lymphocytes T et fonctions

Il existe plusieurs types de cellules T :

Les lymphocytes T cytotoxiques (TCD8 ou T killer) détruisent les cellules infectées. Ces cellules sont dites cytotoxiques car elles sont à elles-mêmes capables de détruire des cellules cibles qui présentent des antigènes spécifiques à travers le CMH de classe I. Elles portent à leur surface un marqueur CD8.

Les lymphocytes T auxiliaires (TCD4 ou T helper) sont des intermédiaires de la réponse immunitaire et prolifèrent pour activer en quantité d'autres types de cellules qui agiront de manière plus directe sur la réponse. Les T auxiliaires régulent ou 'aident' à la réalisation d'autres fonctions lymphocytaires. Elles portent à leur surface un marqueur CD4. On sait qu'elles sont la cible de l'infection à VIH ; le SIDA entraîne la chute de leur population.

Les lymphocytes T régulateurs (Treg) aident à prévenir l'activation des lymphocytes auto-immuns qui détruisent les cellules de leur propre organisme. Auparavant appelés « T suppresseurs », ils sont très importants pour le maintien de l'homéostasie. Le rôle principal est de réprimer l'activité des cellules de l'immunité, soit auto-immune, soit en fin de réaction immunitaire. Ils se distinguent facilement des autres lymphocytes T : ils portent à leur surface les marqueurs CD4 et CD25 à leur état basal, et expriment la molécule FOXP3 dans leur cytosol.

Les lymphocytes NKT sont un type de lymphocytes présentant des marqueurs de cellule T (CD3) et des marqueurs de cellules NK. Ils sont donc un lien entre le système immunitaire inné et le système immunitaire adaptatif. Contrairement aux lymphocytes T conventionnels, dont le TCR reconnaît un peptide présenté dans une molécule du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH), les NKT sont capables de reconnaître un glycolipide présenté dans une molécule appelé CD1d, structurellement proche du CMH de classe I. Une fois activés, les NKT sont capables de lyser les cibles et de sécréter des cytokines.

Les **lymphocytes MAIT**, ou "**lymphocytes T invariants associés aux muqueuses**", disposant d'un TCR semi-invariant.

Les **lymphocytes T $\gamma\delta$** représentent une population de cellules T ayant un TCR (récepteur de cellule T ou *T-Cell Receptor*) particulier. La plupart des T possèdent un TCR composé de deux glycoprotéines, les chaînes α et β . Cependant, les cellules $\gamma\delta$ possèdent un TCR fait d'une chaîne γ et d'une chaîne δ . Ces lymphocytes sont moins abondants que les $\alpha\beta$ (ils représentent 5 % du total des lymphocytes T), mais se retrouvent en plus grande quantité dans la muqueuse intestinale, parmi la population lymphocytaire nommée lymphocytes intra-épithéliaux. Le déterminant antigénique auquel répondent ces lymphocytes est inconnu à l'heure actuelle. Leur TCR ne semble pas restreint à la reconnaissance d'un peptide, mais serait capable de réagir à la présence d'une protéine entière, sans nécessiter la présentation via les molécules du CMH.

Il a été montré que les lymphocytes $\gamma\delta$ pouvaient être activés via le CD1, molécule apparentée au CMHI mais présentant des lipides glycosylés ou non.

L'immunité cellulaire (la réponse immunitaire vis-à-vis d'organismes pathogènes à l'intérieur des cellules) implique l'activation des cellules T.

CD4 et CD8 font référence aux antigènes caractéristiques à la surface des différents sous-types de lymphocytes T. Ces molécules CD sont des marqueurs diagnostiques utiles pour identifier et quantifier ces cellules par cytométrie au moyen d'anticorps dirigés contre eux.

Anciennement, au lieu de CD4 et CD8, etc., on parlait de OKT₄ et OKT₈, etc. et même de T₄ et T₈. En réalité, OKT (3, 4 ou 8) est le nom générique d'une classe d'anticorps monoclonaux thérapeutiques grâce auxquels on a pu caractériser les antigènes CD3, CD4 et CD8 à la surface des lymphocytes T.

3.4. Activation Interactions cellulaires

Les lymphocytes T naïfs vont vers les ganglions lymphatiques et les lymphocytes T mémoires (formés après la première infection) sont circulant (sang, lymphes, ganglions, etc.). Dans les ganglions lymphatiques les lymphocytes T naïfs rencontrent des cellules présentatrices d'antigènes

professionnelles (CPApro), parmi lesquelles les cellules dendritiques (en grande majorité), les macrophages et les lymphocytes B. Les "CPApro" qui ont migré au sein des ganglions se mettent à interagir avec les lymphocytes T naïfs. Les lymphocytes T naïfs qui possèdent un récepteur des cellules T spécifique du complexe peptide-antigène s'activeront.

La différenciation du lymphocyte T naïf en lymphocyte T activé dépend de l'activation de son TCR et de la reconnaissance de molécules de co-stimulation exprimés par les CPApro ainsi que de la sécrétion de cytokines.

➤ **Interactions moléculaires**

La première rencontre moléculaire est celle des molécules d'adhésion. Une fois ce contact établi, les TCR vont rencontrer les complexes CMH-peptides. En cas de rencontre épitope et paratope, la liaison de haute affinité entre le TCR et le CMH provoque la transduction de signaux dans le lymphocyte. C'est ce qu'on appelle le « premier signal ». Cette première activation va entraîner la synthèse de molécules CD28 et CD40L à la membrane du lymphocyte. Ces molécules vont interagir avec des protéines membranaires de la CPA: CD80 et CD86 pour CD28, CD40 pour le CD40L et enfin LFA-1 pour ICAM-1. En l'absence de ces molécules sur la CPA, l'activation du lymphocyte sera avortée. En revanche, si la liaison CD80/86- CD28 se fait, le lymphocyte sera activé. La liaison CD40/CD40L permet quant à elle l'activation finale des CPA qui vont sécréter des cytokines qui orienteront la réponse immunitaire induite tandis que la liaison LFA-1/ICAM-1 permet de stabiliser la liaison entre le TCR et le CMH.

➤ **Constitution de la mémoire**

Lors de l'activation d'un lymphocyte T naïf (première infection) il y a formation d'un certain nombre de lymphocytes T mémoires (issus de l'activation et de la différenciation d'un lymphocyte T naïf). Ces lymphocytes T mémoires sont circulants et « patrouillent » dans la lymphe, ganglions lymphatiques, sang, rate, etc. Leur seuil d'activation est plus faible comparé aux lymphocytes T naïfs, ce qui rend la réponse mémoire bien plus rapide et efficace. Il y a également dans le cas de la réponse mémoire plus de

lymphocytes T mémoires (spécifiques du même antigène) que lors de la première infection. Il existe aussi des lymphocytes B mémoires qui sont également formés après une première infection.

➤ **Extinction de la réponse**

Le facteur de nécrose tumorale contribue à l'élimination des lymphocytes T cytotoxiques activés. Une partie des cellules se différencie en cellules mémoires qui rendront les réponses ultérieures plus efficaces. En l'absence de signaux de survie, les autres cellules rentrent de façon préprogrammée en apoptose. Les signaux de survie sont liés à des cytokines produites par des cellules non lymphocytaires : l'interleukine 7 pour la survie des cellules naïves et l'interleukine 15 pour les cellules mémoires.

1.1. Protéine cellulaire de la mort programmée (PD1)

La PD1 ou CD279 est une protéine de la famille des CD28 qui comprend les récepteurs CD28, les antigènes associés aux lymphocytes T cytotoxiques (CTLA-4), les co-stimulateurs inductibles (CISO) et les atténuateurs des lymphocytes B et T. Ces récepteurs jouent un rôle dans la réponse immunitaire cellulaire. Par exemple, le CD28 est un récepteur co-stimulateur qui améliore l'activation des cellules T, alors que le CTLA-4 est un inhibiteur de l'activation des cellules T. Le PD1 a également une fonction inhibitrice sur les cellules T et B, cellules, et joue un rôle important dans la tolérance périphérique. Il y a au moins 2 ligands pour le PD1, le PD-L1 et PD-L2, qui sont exprimés sur une série de cellules. Le CD28 est exprimé constitutivement sur la plupart ou la totalité des cellules T CD4⁺ et environ 50% des cellules T D8⁺, alors que le CTLA-4 n'est pas exprimé sur les cellules T au repos.

Le PD1 est également exprimé sur les cellules T, les cellules B et cellules myéloïdes activées. Iwai et al ont étudié la répartition micro anatomique des PD1 chez l'amygdale humaine et ont constaté que le PD1 est exprimé sur la plupart des cellules T et sur un petit sous-ensemble de cellules B à la zone illuminée des centres germinaux, mais pas ailleurs dans l'amygdale. Sur cette base, il a été postulé que le PD1 peut jouer un rôle dans le processus de sélection clonale des centrocytes, qui se produit dans ce site subatomique dans

les centres germinaux. Le PD1 est un nouveau marqueur de lymphome angioimmunoblastique et propose une unique cellule d'origine pour ce néoplasme. Contrairement au CD10 et au bcl-6, le PD1 est exprimé par quelques cellules B, et il est donc un marqueur diagnostique plus spécifique et plus utile dans le lymphome angioimmunoblastique. Il semble également que, dans les lymphomes angioimmunoblastique, il marque un pourcentage plus élevé de cellules néoplasiques CD3 positives que le CD10 ou le bcl-6. En outre, l'expression du PD1 fournit de nouvelles preuves que le lymphome angioimmunoblastique est une tumeur provenant des cellules T associées aux centres germinaux. L'expression du PD1 dans les lymphomes angioimmunoblastique continue de plaider en faveur de ce modèle d'oncogenèse de cellules T, dans lesquels des sous-types de cellules T peuvent subir une transformation néoplasique et constituer différents sous-types histologiques, immun phénotypiques et cliniques de néoplasies à cellules T. Chtanova et al ont identifié un certain nombre de gènes qui sont spécifiquement réglés à la hausse dans leur expression dans les cellules T associées aux centres germinaux, en plus du PD1. Il sera intéressant de déterminer Si l'expression de ces gènes peut être étudiée par l'immunomarquage dans les lymphomes angioimmunoblastique et d'autres néoplasmes lymphoïdes. En outre, il se peut qu'un ou plusieurs de ces nouveaux marqueurs de lymphome angioimmunoblastique, tel que le PD1, servent de base à une approche immun thérapeutique du traitement du lymphome angioimmunoblastique de la même manière que l'on utilise l'immunothérapie par anticorps anti-CD20 et anti-CD52 pour traiter les néoplasies à cellules B.

METHODOLOGIE

IV. METHODOLOGIE

1. Lieu de l'étude

Notre étude s'est déroulée à Férékoroba et à Bènèko dans la commune de Ouelessebougou, cercle de Kati, région de Koulikoro au Mali. Ouelessebougou est le chef lieu de sous-préfecture et de la commune du même nom situé à 80 km au sud de Bamako sur la route Bamako-Sikasso.

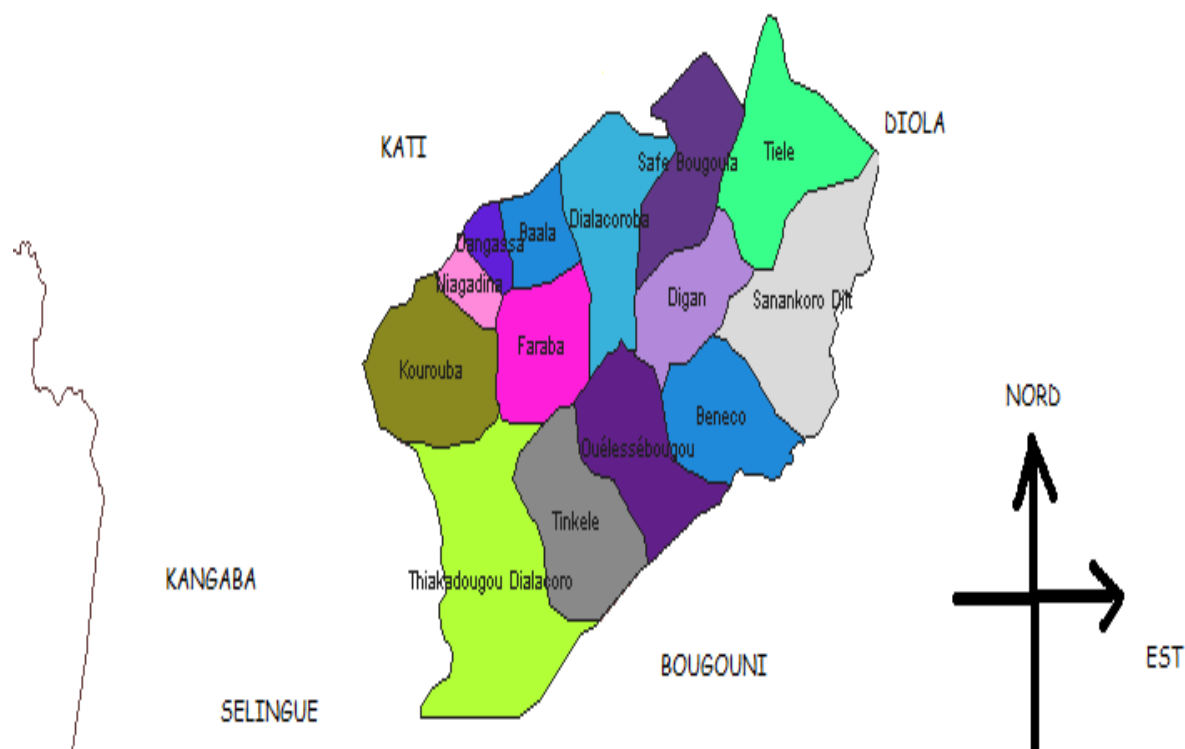


Figure 4 : Carte sanitaire de Ouelessebougou

1.1. Bènèko

1.1.1. Historique

Crée par un chasseur du nom de Sirima Samaké venu du village de Baniko dans le cercle de Dioila et s'installa avec ses frères dans le village de Tekoni. Par la suite il découvrit une zone de culture vivrière propice au sésame (Benè en Bambara) et demanda à ses frères de s'y installer d'où le nom de Bènèko. Les deuxièmes habitants furent les Sacko ensuite les Camara, les Bakayoko et les Coulibaly.

1.1.2. Situation géographique et administrative

Situé à 16 km de Ouelessebougou, chef lieu de commune, l'aire de santé de Bènèko a été créée en Mai 2005 et est Constituée de huit villages : Bènèko, Denfara, kolene, farani, Zelabougou, Banacoro, Dianikoro et bagayokobougou. Elle est limitée :

- Au nord-ouest par l'aire de santé de Ouelessebougou
- Au sud par l'aire de santé de Keleya
- A l'est par l'aire de santé de Sannakoro djitoumou.

1.1.3. Milieu physique et hydrographique

Relief : il se compose de plateaux de faible altitude

1.1.4. Climat et Végétation

- **Le climat** est de type soudanien ; caractérisé par deux saisons : une saison sèche avec deux périodes (une période allant de Novembre à mi-février, pendant laquelle souffle l'harmattan et une période chaude allant de mi-février à Mai), avec une saison pluvieuse de Mai à octobre.
- **La faune** : elle se compose de biches, porc-épics, de lièvres, de pintades et de perdrix
- **La flore** : elle est composée par la savane arborisée. Les essences prédominantes demeurent le karité, le Néré, et le caicedra. Il n'existe pas de forêt classée.
- **Le sol** : il est latéritique sur les plateaux et argileux sur les bas-fonds.
- **La température** varie de 20 à 45°. Le vent dominant est la mousson.
- **L'hydrographie** : dans l'aire de santé de Bènèko ; tout comme la commune de Ouelessebougou, il n'y a pas de cours d'eaux stables, sauf celle de kolena.

L'aire de santé ne regorge pas de ressources naturelles (mine) tout comme sa commune d'appartenance en dehors de leur vaste terre arabe cultivable.

1.1.5. Voies de communication

Le village de Bènèko est relié à la commune rurale de Ouelessebougou par une piste latéritique praticable en toutes saisons. Un réseau de piste agricole

latéritique relie également aux autres villages. Leurs entretiens sont souvent assurés par l'opération de la haute vallée du Niger, le plan international de parrainage, le génie rural et les populations. Certaines sont praticables toutes l'année, les grands axes et d'autres deviennent impraticables pendant l'hivernage.

Le village de Bènèko dispose de réseaux de téléphonies ; tel que Orange Mali et le SOTELMA Malitel.

1.1.6. Données démographiques

La population de l'aire de santé est estimée en 2015 à 8.589 habitants selon le recensement général de la population et de l'habitat de 2011 actualisé selon le taux d'accroissement. La population de Bènèko est composée essentiellement des Bambara, qui sont majoritaires cependant on y retrouve des peulhs, des Sarakolés, des bobos, des miniankas etc.... qui cohabitent de façon harmonieuse.

1.1.7. Ressources naturelles :

L'économie est essentiellement agro-pastorale, les principales activités sont : l'agriculture, l'élevage, la pêche et le commerce. L'agriculture représente la principale activité. Elle est surtout une agriculture de subsistance avec le mil, le riz, le maïs, à laquelle il faut ajouter une agriculture de rente : coton, tabac et arachide. Les activités de maraichage connaissent un essor et sont de plus en plus pratiquées ; par des associations et coopératives féminines. Elles permettent une amélioration substantielle du régime alimentaire et des revenus. La production de certains produits (oignon, pastèque, melon, concombre, aubergine) ne peut être quantifiée, leur commercialisation étant directe ; entre producteurs et consommateurs.

1.1.8. L'élevage :

L'élevage est une activité secondaire pratiquée par des agriculteurs. Bènèko est une zone de transhumance des éleveurs venant du sahel. Les animaux sont élevés pour la commercialisation. Les produits de cueillette concernent essentiellement le karité, le néré, la zaban. Leurs productions constituent, une importante source de revenue pour les femmes. Ils sont consommés ou

destinés à la vente. L'artisanat est mal exploité dans la zone. Il reste embryonnaire ; pratiqué en amateurs. A Bènèko, on trouve les tailleurs, les bijoutiers, les forgerons, les cordonniers etc. Le tourisme formel n'existe pas ; par conséquent il ne génère aucune ressource financière. L'industrialisation est inexistante, il n'y a aucune unité industrielle.

La seule foire hebdomadaire est celle de Ouelessebougou et elle est très timide pendant la saison des pluies dans se passe toute les échanges. Le transport routier est peu développé.

1.1.9. Les services administratifs :

- Les écoles publiques fondamentales,
- L'Office de la Haute Vallée du Niger (OHVN),
- Le Centre de Sante Communautaire (CSCoM).

La langue parlée par excellence est le "Bamanakan" ; on y parle aussi le Peulh et le Dogon. Les principales religions pratiquées par la population sont : l'Islam, le Christianisme et l'Animisme.

1.1.10. Les activités du CSCOM

Les activités du CSCOM sont dominées par :

- Les consultations externes,
- Les programmes élargis de vaccination (PEV),
- Les accouchements, les consultations prénatales et planning familial,
- Les soins curatifs,
- Les ventes de médicament (DCI),
- Les Programmes de malnutrition.

1.2. Férékoroba

1.2.1. Historique

Crée par Tièssabacoro Samaké il y a 700 ans environ dont les premiers habitants sont : Badièmonzomba Samaké, Massiragnina Samake, Saboutièni Traore. Les Samaké assurent la chefferie. Le village a pris le nom d'un des descendants des Samaké du nom de Fodékoroba.

1.2.2. Situation géographique et administrative

Férékoroba est à 8 km de Ouelessebougou et est limité à l'est par Bènèko au sud par Tamala à l'ouest par Sèguèssona et au nord par Banankoro.

1.2.3. Milieu physique et hydrographique

Férékoroba est situé sur des grottes (fouga en bambara), le climat est sahélien très chaud pendant la saison sèche, la végétation est constituée d'arbustes. Le village est arrosé par un long marigot qui passe à l'ouest du village dont les abords sont propices au maraîchage, le village est doté de 3 forages que les habitants utilisent comme source d'eau potable.

1.2.4. Education

Les enfants bénéficient d'une éducation traditionnelle ancestrale mais la plupart des enfants vont à l'école. Le village est doté d'un premier et d'un second cycle fondamental.

1.2.5. Démographie

Le village de Férékoroba compte environ 721 habitants (selon le dernier recensement de MRTC Ouelessebougou LMIV 2016) composées de Samaké, des Traoré, des Doumbia, des Sinayoko et des Camara qui sont tous des Bambaras et en fin les Sangaré peulh. Les religions pratiquées sont l'islam ; le christianisme et l'animisme

1.2.6. Aspects économiques

L'agriculture est à la base de l'économie du village, le maraichage est destiné à la vente et l'élevage centré sur les volailles et les petits ruminants.

2. Type d'étude

Il s'agissait d'une étude transversale.

3. Période et population d'étude

L'étude a porté sur les enquêtes transversales des mois d'Août et de Décembre 2015. Les enfants âgés de 12 à 59 mois vivant dans les deux villages (Bènèko et Férékoroba) étaient suivis pendant toute la saison de transmission palustre dans le cadre de cette étude.

4. Critères d'inclusion et de non inclusion

4.1. Critères d'inclusion

Les critères d'inclusion sont :

- Enfant âgé de 12-59 mois ;
- Parent/tuteur ayant fourni un consentement éclairé pour la participation de son enfant ;
- Résidant dans le district sanitaire de Ouelessebougou, les districts voisins pendant au moins un an.

4.2. Critères de non inclusion

Les critères de non inclusion sont :

- Anémie cliniquement significative ou toutes autres conditions qui peuvent être aggravées par le prélèvement veineux de 5ml de sang ou toute autre procédure de l'étude ;
- Maladie chronique ou débilitante qui peut empêcher la participation aux visites mensuelles ;
- Immunodépression ou infection chronique ;
- Allergies connues pour les traitements de l'étude (SP ; amodiaquine ; artemether-lumefantrine) ;
- Les enfants sous Cotrimoxazole en prophylaxie ;
- Conditions qui selon l'avis de l'investigateur pourront augmenter le risque pour le volontaire.

5. Organisation du travail

Le travail était réalisé à Bènèko et Férékoroba. Certains échantillons sont traités sur place à Ouelessebougou et d'autres sont transportés et traités au laboratoire de recherche du Programme Immuno-Epidémiologie du MRTC au Point G à Bamako. La permission communautaire étant obtenue avant le début de l'étude, un consentement écrit individuel était obtenu avant le screening et l'inclusion dans l'étude. Le travail était organisé autour de différents postes dans les deux villages.

Poste d'identification

Il était composé essentiellement d'un chargé d'identifier les sujets. Chaque enfant était identifié par son numéro d'identification composé du numéro d'étude unique.

Poste clinique

Un interne à Férékoroba et un DTC à Bènèko occupaient ce poste clinique. Leurs tâches consistaient à faire un examen clinique des participants avec la prise de la température axillaire, du poids corporel, de la taille, du périmètre crânien et brachial ainsi que la prescription médicamenteuse s'il y a lieu. Du poste clinique, les sujets étaient conduits au poste de prélèvement.

Poste de prélèvement

Des biologistes étaient chargés de faire les prélèvements de sang capillaire et/ou veineux, la confection de goutte épaisse et de frottis mince, la réalisation d'un test de diagnostic rapide (TDR) au besoin. Les prélèvements de sang veineux se faisaient sur des tubes EDTA et/ou sur des petits tubes (microtainer). Certains étaient envoyés au laboratoire de recherche du Programme Immuno-Epidémiologie du MRTC au Point G à Bamako pour le dosage de l'expression de PD1 sur les cellules T CD4+ par cytométrie de flux.

Au laboratoire de recherche le travail était organisé autour de deux postes :

➤ *Poste de réception des échantillons*

Un biologiste était chargé de réceptionner tous les échantillons envoyés de Ouelessebougou avec leurs CRFs en vérifiant la qualité des échantillons (sang non hémolysé et non coagulé) ainsi que la conformité des données sur les tubes de prélèvement et les CRFs. Sur les tubes et les CRFs étaient mentionnés le numéro d'identification, la semaine, le contact, la date de prélèvement, l'heure de prélèvement et l'initial du préleveur.

➤ **Poste de traitement des échantillons**

Après la réception, les échantillons collectés sur des petits tubes (microtainer) étaient utilisés pour le dosage des cellules T. Ces tests étaient également réalisés par des biologistes

6. Critères de jugement de l'étude

Le critère de jugement primaire était :

- Le marqueur de cellules T supresseurs : la proportion d'expression de PD1 sur les cellules T CD4+.

Les critères de jugement secondaires étaient :

- Le paludisme infection (parasitémie détectée par la goutte épaisse) et
- L'anémie

7. Taille de l'échantillon

La taille de notre échantillon et les calculs de puissance étaient basés sur le critère d'évaluation principal des marqueurs des cellules T supresseurs. Nous estimons pouvoir détecter les différentes proportions d'expression de PD1 sur les cellules T CD4 +, à un seul point du temps entre les enfants qui avaient présenté une infection palustre pendant la précédente saison des pluies par rapport à ceux qui ne l'avaient pas fait. Ces données sont prises en fonction de celles d'une étude préalable réalisée au Kenya qui a comparé les enfants dans des villages impaludés et non impaludés [31]. Ces données suggèrent une moyenne de 10% de la proportion d'expression de PD1 dans les cellules T CD4 + chez les sujets exposés contre 5% chez les sujets non exposés (Ecart-type de 0,4 dans le groupe exposé et environ la moitié dans le groupe non exposé). Sur la base de ces données, nous pourrions nous attendre à avoir plus de 80% de puissance pour détecter une différence de taille similaire via un test de Wilcoxon si nous observons 18 sujets, soit 9 dans chaque bras. Compte-tenu de la petite taille de l'échantillon des données observées dans le bras naïf dans l'étude de Illingworth et *al* [31], nous exigerons un minimum de 13 enfants par bras, ce qui devrait nous donner plus de 90% de puissance pour détecter ce grand effet-taille ; dans ce cadre, un plus grand nombre dans les

bras de l'étude nous permettra de détecter de petites taille-effets pour d'autres paramètres de l'étude. Ce calcul nous a donné la taille de l'échantillon pour les villages dans lesquels la CPS n'a pas été introduite (Férékoroba). Nous avons utilisé un groupe de 50 enfants appariés selon l'âge dans le groupe de la CPS pour comparer les proportions d'expression de PD1 sur les cellules T CD4+.

8. Enrôlement et recrutement des participants

Les participants potentiels de l'étude dans l'aire de santé de Ouelessebouougou ont été informés sur l'étude à travers des réunions communautaires et pendant les visites aux centres de santé. Les informations concernant les objectifs de l'étude, la population cible, et les procédures de l'étude ont été présentées. Les parents des enfants éligibles ont été invités au centre de santé et le consentement éclairé individuel est obtenu avant tout enrôlement dans l'étude. Avant tout enrôlement, il est demandé aux tuteurs de lire et signer le consentement éclairé. Si le tuteur ne peut pas lire et comprendre le français, le consentement éclairé est traduit oralement dans la langue locale en présence d'un témoin qui peut lire et comprendre le français. Les tuteurs qui ne peuvent pas lire apposent leur empreinte digitale à la place de la signature ; en plus un témoin indépendant signe le formulaire de consentement pour attester que le contenu du document de consentement éclairé a été communiqué.

9. GESTION ET ANALYSE DES DONNÉES

Les données ont été recueillies dans les cahiers d'observation individuels des participants, saisis et vérifiés dans une base de données Data fax (version 4.2) puis exporté sur Excel et analyse par le logiciel R.

Pour les variables qualitatives les tests de chi 2 et de Fisher avaient été utilisés pour les comparaisons.

Pour les variables quantitatives nous avons utilisés le test de Wilcoxon pour comparer l'âge moyen et médian des enfants dans les deux groupes.

10. CONSIDERATIONS ETHIQUES

Le protocole d'étude finalisé avait été examiné, approuvé par le comité d'éthique de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie

de l'Université de Bamako. Un consentement éclairé était obtenu avant le screening pour inclusion dans l'étude.

Les sujets étaient identifiés par des numéros d'identification qui sont portés dans les dossiers et les prélèvements afin de préserver l'anonymat des participants. Les participants recevaient des soins médicaux gratuits en cas de maladie et une compensation pour leurs temps et les voyages.

Techniques de mesure des variables

➤ Variables démographiques

Les principales variables démographiques sont le sexe et l'âge. Elles ont été déterminées à l'inclusion sur la base des données du recensement et confirmées par l'interrogatoire et l'examen clinique.

➤ Variables cliniques

★ La température

Elle était prise à l'aide d'un thermomètre électronique placé dans le creux axillaire. L'audition d'un signal sonore émis par le thermomètre indique la fin de la prise de température. La fièvre a été définie par une température axillaire non corrigée supérieur ou égale à 37,5°C.

★ Le poids

Il était mesuré à l'aide d'un pèse-personne convenablement étalonnée et exprimé en kilogramme de poids (kg).

★ La taille

Elle était mesurée à l'aide d'une toise verticale et exprimée en centimètre (cm). La présence des signes et symptômes du paludisme notamment la fièvre ou notion de fièvre, les vomissements, douleurs abdominales, diarrhées, la pâleur et l'anorexie étaient déterminés par interrogatoire et examen physique.

➤ Variables biologiques

★ La parasitémie

Les techniques de la goutte épaisse et du frottis mince ont été utilisées pour la détermination de la charge parasitaire, le stade de développement du parasite et l'espèce plasmodiale.

❖ ***Préparation de la goutte épaisse et du frottis mince***

Étiquetage de la goutte épaisse et du frottis

Chaque lame est étiquetée de façon correcte et lisible avant la collecte de sang sur elle.

L'étiquetage est fait sur la partie rugueuse de la lame.

Les lames ont porté les informations suivantes :

- Le numéro d'identification de l'enfant
- La date de visite et
- La semaine et le contact.

Prélèvement de sang capillaire pour la goutte épaisse/frottis

Choisir le 3^{ème} ou le 4^{ème} doigt de la main gauche. Eviter les doigts enflés ou tuméfiés ainsi que les doigts présentant une éruption cutanée ou les doigts très froids.

Réchauffer le doigt si nécessaire en le frottant entre vos mains. Nettoyer le doigt avec un tampon d'alcool (70% c/v).

Laisser sécher ou nettoyer avec du coton sec pour ôter le reste de l'alcool avant la piqûre.

Retirer un vaccinostyle de son emballage en évitant de toucher le bout pointu.

Ne pas piquer près de l'ongle et éviter les côtés du doigt. Piquer fermement d'un coup au centre de la pulpe du doigt. Le bout du vaccinostyle doit bien pénétrer le doigt pour un écoulement adéquat de sang.

Nettoyer la première goutte de sang avec du coton sec. Recueillir assez de goutte de sang pour la GE pour la confection du frottis. Presser le doigt vers l'extrémité si nécessaire pour recueillir suffisamment de gouttes de sang. Disposer deux gouttes de sang sur la lame comme ci-dessous.

Placer un tampon sec sur la zone de la piqûre et demander à l'enfant ou à son parent/tuteur de le tenir environ 2-3 minutes jusqu'à l'arrêt de l'écoulement de sang.

Préparation de la GE et du frottis :

Déposer une lame sur une surface ferme et plate. Utiliser une lame d'étalement pour préparer la GE et le frottis mince.

Placer un bout de la lame d'étalement juste après la goutte de sang déposé pour le frottis.

Permettre un léger contact de la lame avec la goutte de sang et laisser le sang se répandre sur les bords de la lame d'étalement.

En tenant la lame d'étalement, former un angle de 45 degré avec la lame de GE/frottis et pousser doucement et régulièrement vers le bout de la lame de GE/frottis jusqu'à ce que le sang soit entièrement reparti sur la surface de la lame pour former le frottis mince.

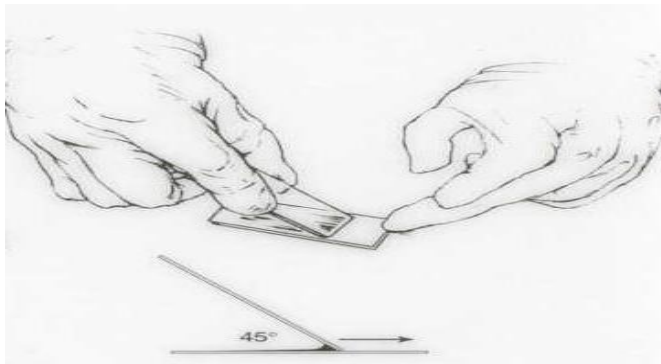


Figure 5 : Technique du frottis mince

Source : Manuel des techniques de base pour le laboratoire, OMS : 1997.

S'assurer que la lame d'étalement est bien en contact avec la surface de la lame de GE/frottis au moment de la confection du frottis.

En utilisant un coin de la lame d'étalement joindre les gouttes de sang recueilli pour la GE en formant un cercle de 1 à 1.5 cm de diamètre.

Ne pas triturer excessivement le sang.

Toutes ces tâches doivent être exécutées rapidement afin d'éviter la coagulation du sang.

Eviter des GE trop épaisses ou des frottis trop fins.

Déposer la lame de goutte épaisse/frottis mince dans la boîte de collection de type OMS pour séchage.

❖ Coloration des lames

La coloration de goutte païsse/frottis était effectuée après fixation du frottis au méthanol et coloration au Giemsa dilué à 10% avec de l'eau distillée. Les lames étaient placées sur le côté dans un portoir et tremper dans un bassin contenant le colorant de Giemsa fraîchement préparé pendant 15 à 20 minutes.

Au terme du temps de coloration les lames étaient rincées et séchées sur le râtelier à l'air libre.

❖ *Lecture des lames*

La procédure de double lecture systématique par 2 techniciens indépendants était adoptée.

La lecture des lames était faite à l'aide d'un microscope optique binoculaire à immersion (objectif 100). La parasitémie était établie en comptant les formes asexuées et les formes sexuées (gamétocytes) de chaque espèce plasmodiale observée contre 300 leucocytes pour les formes asexuées et 500 pour les gamétocytes. Les résultats sont exprimés en nombre de parasites par mm³ de sang sur la base du nombre des leucocytes obtenus à partir de la numération formule sanguine. Après la lecture double un programme informatique était utilisé pour comparer les résultats afin de déterminer s'il y a une différence de plus de 30% entre les 2 lectures auquel cas une troisième lecture était réalisée par un autre technicien de laboratoire.

❖ *Matériels utilisés pour la préparation, coloration et lecture de la GE/frottis*

Microscope optique avec objectif à immersion (x100)

Lames porte-objets

Vaccinostyles stériles

Gants

Coton hydrophile

Alcool à 70°C

Méthanol

Colorant Giemsa

Détergent (Ajax)

Bac à coloration avec portoir à lames

Papier absorbant

Tissu doux et non pelucheux

Marqueur indélébile

Crayon

Stylo

Séchoir

Chronomètre

Eau distillée

Eau de javel

Pot d'étalement

Bassine

Eau de robinet

Eau distillée à PH=7.2

Huile à immersion

Poubelles

Registre + cahiers de paillasse

Fiches de report des résultats

Boîtes de rangement des lames type

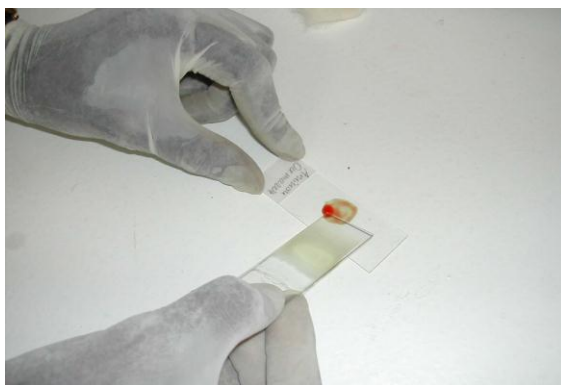


Figure 6 : Technique de la goutte épaisse

★ Taux d'hémoglobine

La détermination du taux d'hémoglobine était faite en utilisant un hemoglobinomètre (Hémocue,) ou en faisant un hémogramme en utilisant un automate.

La détermination du taux d'hémoglobine en utilisant un hemoglobinomètre (Hémocue). Elle consistait à désinfecter le bout du troisième ou du quatrième doigt avec l'alcool et de faire une ponction capillaire avec un vaccinostyle stérile. La première goutte de sang était enlevée avec un coton sec. Après une goutte de sang est mise dans une micro cuvette et on place la micro cuvette

dans l'hémoglobinomètre qui affichait automatiquement le taux d'hémoglobine sur l'écran.

❖ Matériels utilisés

Hémocue (Hb201⁺)

Cuvette de calibration

Micro cuvette pour dosage de l'hémoglobine (à conserver entre 15 et 30°C)

Adaptateur secteur ou 4 piles de type AA

Tampon d'alcool

Tissu ou papier kleenex et Vaccinostyle stérile.



Figure 7 : Hémocue

★ Dosage des cellules T supresseur

Technique :

Le dosage des marqueurs des cellules T supresseur est fait en utilisant la cryométrie de flux.

Elle consistait à effectuer en ex vivo, l'immuno-marquage du sang total par des anticorps fluorescents (anti-FOXP3-FITC, anti-CD160-PE, anti-CD4-PE-CY5, anti-PD-1- APC, anti-CD3-Alexa-700, anti-CD8- APC-CY7 and anti-LAG3-Pacific Blue) au début et à la fin de la saison de transmission selon la procédure ci-dessous.

❖ Matériels :

FACS tube,

Pipettes de 2ul, 20ul et 200ul

Pipette sérologique : 10ml

Centrifugeuse

Réactifs :

Phosphate buffered saline (PBS),

Fix/Perm

Perm Buffer (1X)

Sérum de Rat à 2%

❖ Procédure :

Pipeter 150ul de sang total dans le FACS tube

Ajouter 1 ul des anticorps de surface (anti-CD160-PE, anti-CD4-PE-CY5, anti-PD-1- APC, anti-CD3-Alexa-700, anti-CD8- APC-CY7 and anti-LAG3-Pacific Blue) et vortexer

Incuber à la température ambiante en absence de la lumière pendant 30mn.

Laver avec 2 ml de PBS, centrifuger à 1700 tours pendant 5 mn puis enlever le surnagent,

Ajouter 1 ml de solution de Fix/perm dans chaque tube, puis vortexer

Incuber pendant 20mn à 4°C.

Laver avec 2 ml de PBS, centrifuger à 1700 tours pendant 5mn et enlever le surnagent

Laver avec 1 ml de Perm Buffer par tube, vortexer

Centrifuger à 1700 tours pendant 5mn, enlever le surnageant.

Ajouter 50ul du sérum de rat à 2%, vortexer et incuber pendant 10mn

Ajouter 2.5ul d'anti-FOXP3-FITC dans chaque tube

Incuber pendant 30mn à 4°C.

Laver avec 2ml de Perm Buffer (1X). Centrifuger à 1700 tours pendant 5mn et enlever le surnagent.

Resuspendre les cellules dans 250ul de PBS. Stocker dans 4°C jusqu'au moment de l'utilisation au LSR II.

❖ Préparation des tubes de compensation

Aliquoter les tubes

Ajouter une goutte de beads compensation (One Compbeads) dans chaque FACS tube

Ajouter la même quantité d'anticorps utilisée dans les échantillons
 Incuber pendant 15mn à la température en l'absence de la lumière
 Laver avec 1 ml de PBS, centrifugé à 1700 tours pendant 5mn. Enlever le surnageant
 Ajouter 300ul de PBS dans chaque tube et vortexer.
 Stocker dans 4 °C jusqu'au moment de l'utilisation au LSR II.

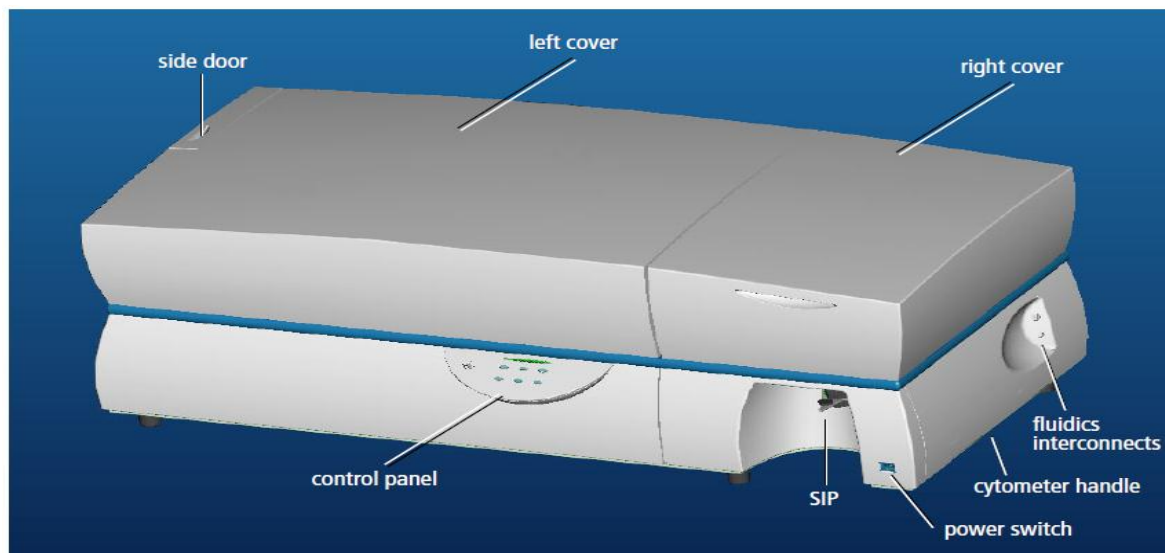


Figure 8: BD LSR II flow cytometer

bdbiosciences.com

❖ Résultat et interprétation

La proportion de CD4⁺ exprimant la PD1 était obtenue à partir de la proportion de CD3 exprimée sur les lymphocytes T.

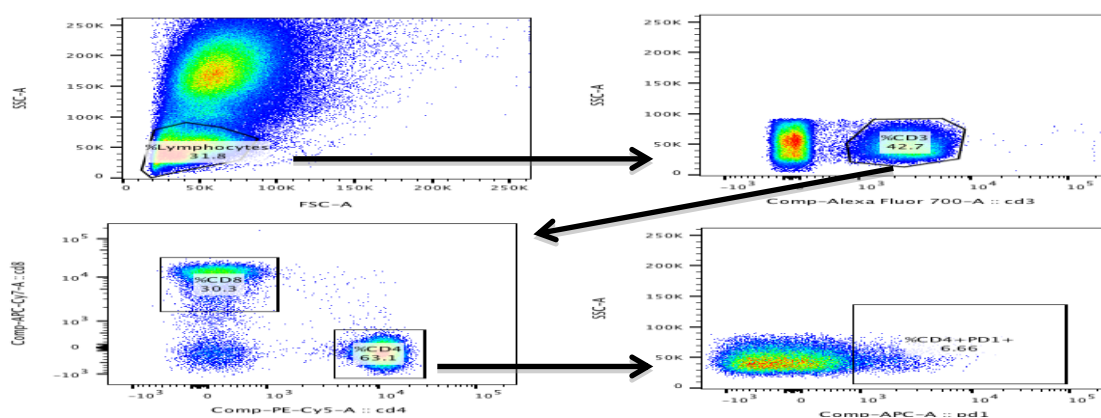


Figure 9 : Stratégie d'analyse d'expression de PD1 sur les cellules T CD4⁺.

RESULTATS

V. RESULTATS

1. Caractéristiques démographiques

Au total nous avons inclus 100 enfants dont 50 dans le groupe exposé (CPS+) et 50 dans le groupe contrôle (CPS-). Au cours du suivi 7 participants ont retirés leur consentement dont 1 dans le groupe CPS+ et 6 dans le groupe CPS-.

Tableau I : Répartition des enfants en fonction du sexe et des groupes de traitement

	Féminin n (%)	Masculin n (%)	Total n (%)
Groupe			
CPS-	27 (52,94)	23 (46,94)	50 (50)
CPS+	24 (47,06)	26 (53,06)	50 (50)
Total	51 (100)	49 (100)	100 (100)

Les enfants de sexe masculin représentaient respectivement de 46,94 % et 53,06% dans le groupe de CPS- et de CPS+ et étaient comparable dans les deux groupes ; $\chi^2=0,3601$, $p=0,548$.

Tableau II : Répartition des enfants en fonction de l'âge (mois) moyen et des groupes de traitement

	n	Moyenne	IC à 95%
Groupe			
CPS-	50	33,52	29,62-37,42
CPS+	50	33,64	30,35-36,93

Les âges moyens étaient de 33,52 mois avec un intervalle de confiance de [29,62-37,42] et de 33,64 mois avec un intervalle de confiance de [30,35-36,93] respectivement dans le groupe CPS- et CPS+ et étaient comparables dans les deux groupes $p = 0,5188$.

2. Infection palustre

Tableau III : Répartition des enfants en fonction de la goutte épaisse et par groupes de traitement en début de saison.

	CPS-	CPS+	Total
	n (%)	n (%)	n (%)
Goutte épaisse			
+	25 (50)	20 (40)	45 (45)
-	25 (50)	30 (60)	55 (55)
Total	50 (100)	50 (100)	100 (100)

En début de saison l'infection palustre (GE+) était de 50% dans le groupe CPS+ et de 40% dans le groupe CPS- et était comparable dans les deux groupes ; $\chi^2=1,0101$, $p=0,315$.

Tableau IV : Répartition des enfants en fonction de la goutte épaisse et par groupes de traitement en fin de saison.

	CPS-	CPS+	Total
	n (%)	n (%)	n (%)
Goutte épaisse			
Goutte épaisse +	9 (20,45)	5 (10,20)	14 (15,05)
Goutte épaisse -	35 (75,55)	44 (89,80)	79 (89,95)
Total	44 (100)	49 (100)	100 (100)

L'infection palustre (goutte épaisse +) en fin de saison était de 10,20% dans le groupe CPS+ et de 20,45% dans le groupe CPS- et était comparable dans les deux groupes ; $\chi^2=0,5059$, $p=0,477$.

3. Anémie

Figure 10 : Répartition des enfants en fonction de l'anémie définie par un taux d'hémoglobine inférieur à 11 g/dl (Hb <11 g/dl) et par groupes de traitement en début de saison.

Les enfants anémiés étaient de 78 % dans le groupe de CPS+ et de 68 % dans le groupe CPS- et étaient comparable dans les deux groupes en début de saison ; $\chi^2 = 1,2684$, $p = 0,260$.

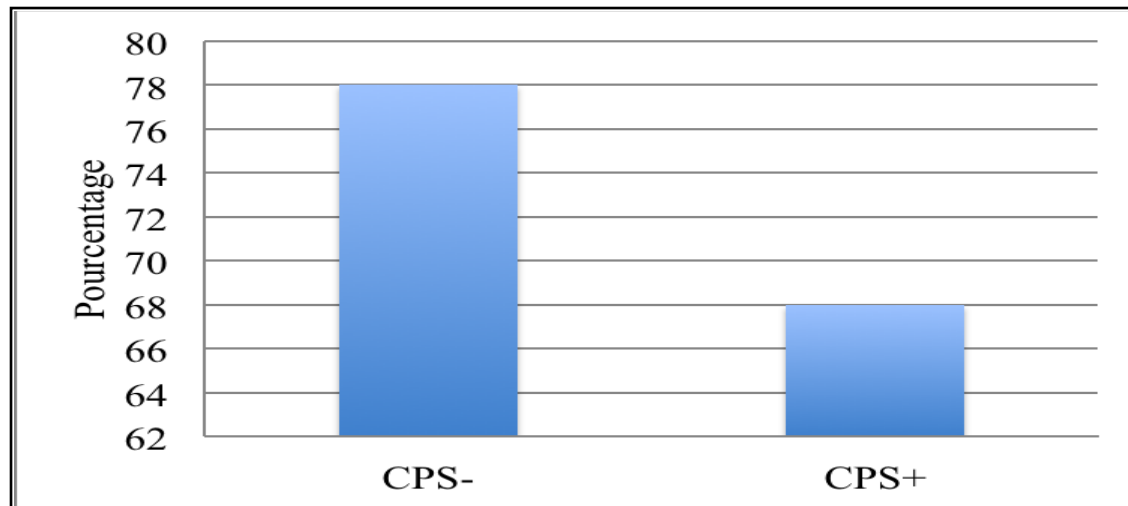


Tableau V : Répartition des enfants en fonction de type d'anémie et par groupes de traitement en début de saison.

Groupe	Anémie		
	Modérée n (%)	Légère n (%)	Total n (%)
CPS-	6 (60)	33 (52,38)	39 (53,42)
CPS+	4 (40)	30 (47,62)	34 (46,58)
Total	10 (100)	63 (100)	73 (100)

L'anémie légère était plus représentée en début de saison avec 52,38 % dans le groupe CPS- et 47,62% dans le groupe CPS+ et étaient comparable dans les deux groupes ; $\chi^2 = 0,2013$, $p = 0,654$.

Figure 11: Répartition des enfants en fonction de l'anémie définie par un taux d'hémoglobine inférieur à 11 g/dl (Hb <11 g/dl) et par groupes de traitement en fin de saison.

En fin de saison les enfants anémiés étaient comparable dans les deux groupes et étaient de 37,50% et 57,78% respectivement dans le groupe CPS- et CPS+ ; $\chi^2=3,8311$, $p=0,050$.

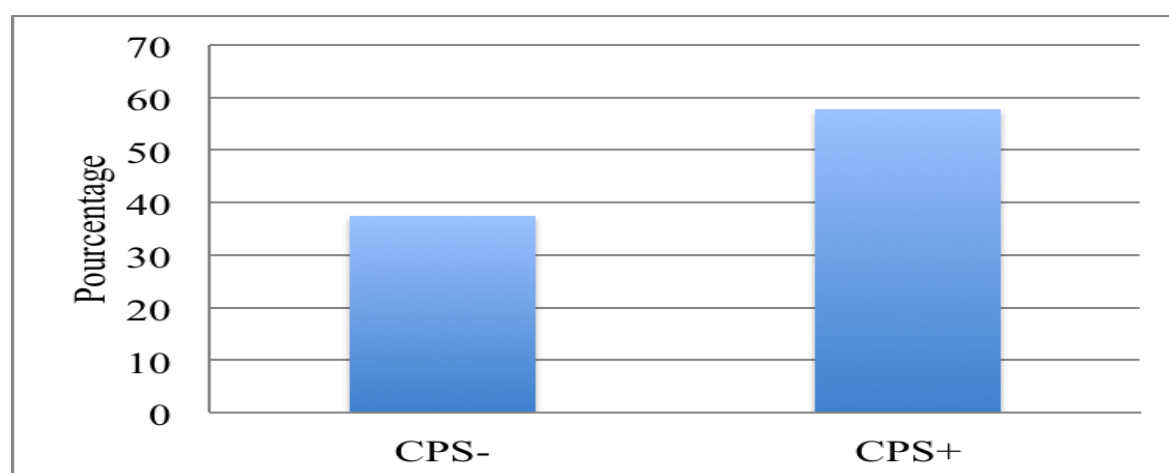


Tableau VI : Répartition des enfants en fonction de type d'anémie et par groupes de traitement en fin de saison.

Groupe	Anémie		
	Modérée n (%)	Légère n (%)	Total n (%)
CPS-	1 (5,56)	17 (94,44)	18 (100)
CPS+	0 (0)	25 (100)	25 (100)
Total	1 (2,33)	42 (97,67)	43 (100)

En fin de saison l'anémie légère étaient plus représentée avec 94,44 % dans le groupe CPS- et 100% dans le groupe CPS+ et étaient comparable dans les deux groupes ; $\chi^2= 1,4220$, $p=0,233$.

4. Expression de PD1 sur les cellules T CD4

Tableau VII : Proportion d'expression de PD1 sur les cellules T CD4+.

	Août			Décembre			Août moins Décembre		
	CPS- n=50	CPS+ n=50	p	CPS- n=44	CPS+ n=49	p	CPS- n=44	CPS+ n=49	p
PD1+CD4+									
Moyenne(%)	15,12	17,57	0,04	9,15	11,27	0,004	6,23	6,10	0,55
(Sd)	7,12	5,25		4,02	3,14		7,83	3,42	

La proportion moyenne d'expression de PD1 sur les cellules T CD4+ était de 17,57 % dans le groupe CPS+ et 15,12 % dans le groupe CPS- en début de saison et n'était pas comparable dans les deux groupes ; $p=0,04$. Il en est de même en fin de saison ou le moyenne d'expression était de 11,27 % dans le groupe CPS+ et 9,15 % dans le groupe CPS- ; $p=0,004$. Par contre la variation moyenne des proportions d'expression de PD1 sur les cellules T CD4+ de 6,23 % dans le groupe CPS- et de 6,10 % dans le groupe CPS+ et était similaire dans les deux groupes ; $p=0,55$.

COMMENTAIRES ET DISCUSSION

VI. COMMENTAIRES ET DISCUSSION

1. Sur le plan méthodologie

Nous avons mené cette étude dans deux villages (Bènèko et Férékoroba) dans le district sanitaire de Ouelessebougou, une localité de forte transmission du paludisme (Dicko et al) pendant la saison de transmission du paludisme en 2015. Le choix de cette localité était justifié par le fait que les deux zones étaient comparables du point de vue sociodémographique d'une part, et d'autre part nous avons saisi l'opportunité de la mise en œuvre progressive de la CPS à Ouelessebougou pour étudier l'effet de cette intervention sur la fonction des cellules immunitaires. La chimio prévention du paludisme saisonnier était implantée progressivement avec une zone d'exposition (Bènèko) et une zone de contrôle qui n'avait pas reçu la CPS (Férékoroba). Les enfants étaient soumis à une surveillance active et une surveillance passive tout au long de la saison de transmission du paludisme dans les deux villages. Cette surveillance a permis la détection rapide et exhaustive des cas de paludisme ainsi que leur prise en charge rapide. Deux enquêtes transversales étaient effectuées en début de saison en Août et en fin de saison en Décembre soit un mois après l'administration de la dernière dose de la CPS pour la collecte des données y compris des prélèvements veineux pour le dosage de l'expression de PD1 dans les cellules T CD4+, le taux d'hémoglobine et la parasitémie.

2. Sur le plan résultats

Sur le plan des caractéristiques démographiques, quant à la répartition des enfants par sexe et par groupe de traitement, il n'y avait pas de différence entre les deux groupes et étaient de 46,94 dans le groupe CPS- et de 53,06 dans le groupe CPS+, $p=0,548$. Ces résultats sont comparables à ceux de Diarra D [23] qui étaient 50,8% pour les garçons. La moyenne d'âge était comparable dans les deux groupes avec 33.52 mois et 33.64 mois respectivement dans le groupe CPS- et CPS+, $p=0,5188$.

Sur les 100 enfants inclus dans l'étude en début de saison, la prévalence de l'infection palustre était de 40% dans le groupe CPS+ et de 50% dans le

groupe CPS- et était comparable dans les deux groupe $p=0,315$. Ce résultat était comparable à celui de Dicko A et al [25] qui était en 2014 à Bafoulabé 30,5% mais différent de celui observait à Kita qui était de 24,1% à la même période. Par contre la prévalence observait dans le CPS- était comparable à celui de Diarra K [23] qui était de 52,2%, à ceux de EDSM 2012-2013 [7] qui était également de 52% pour les enfants de 6 à 59 mois à la même période.

Ces différences peuvent être expliquées par la forte endémicité du paludisme à Ouelessebougou ; mais démontre aussi l'hétérogénéité de la transmission du paludisme. En fin de saison, sur les 93 enfants qui avaient complété l'étude, la prévalence de l'infection palustre étaient similaire dans les deux groupes avec respectivement 20,45% et 10,20% dans le groupe CPS- et CPS+ ; $p=0,477$. Cette similarité au niveau de la prévalence peut être expliquée par la surveillance passive et active auxquelles ont été soumis les deux groupes pendant toute la saison de transmission du paludisme en 2015. Ces résultats étaient comparables à celui de Diarra K [23] qui était de 23,3% en 2014 à Ouelessebougou à la même période.

Les enfants ayant une anémie représentaient 78 % dans le groupe CPS- et de 68 % dans le groupe CPS- en début de saison et étaient comparable dans les deux groupe, $p=0,260$.

Ces résultats étaient similaires à ceux de Sanogo D [21] à Selingué, de Sylla K à Sénégal [19], de James P Wirth et al [20] (Sierra Leone), et de Kalifa D [23] à Ouelessebougou qui étaient respectivement de 70,4 ; 72,7% ; 76,3% ; et 78,1%. Ces résultats étaient également comparables à ceux de DIAWARA F et al qui étaient respectivement de 61% et 62% à Kita et Bafoulabe [22] et de l'EDSM 2012-2013 [7] qui était 82% à la même période.

En fin de saison, les enfants ayant une anémie représentaient 37,50 % dans le groupe CPS- et de 57,8 % dans le groupe CPS- et étaient comparable dans les deux groupe, $p=0,05$. Ces résultats étaient comparables à ceux Diarra K [23] à Ouelessebougou en 2014 et de Dicko et al à Kita en 2014 [25] qui étaient respectivement de 52% et de 49,3% à la même période.

En fin de saison l'anémie légère était la plus fréquente avec 94,4 % suivie de l'anémie modérée de 5,6% dans le groupe CPS- et 100% dans le groupe CPS+ et était comparable dans les deux groupe, $p=0,233$. Ces résultats étaient comparables à ceux de Diarra K [23] qui avait observé à la même période que l'anémie légère était la plus fréquente avec 51,5% suivie l'anémie modéré avec 3,05% et en fin la forme sévère avec moins de 1%. Par contre ces résultats sont différent de ceux de Dicko et al en 2008 [24] et de DIAWARA F et al [22] à Kita qui avaient obtenus à la même période que l'anémie modéré était la plus fréquente. Cette différence peut être expliquée par le fait que les sujets dans notre étude ont été soumis à une surveillance passive et active pendant toute la période de suivis.

En début de saison, la proportion moyenne d'expression de PD1 sur les cellules T CD4+ était de 15,12 % dans le groupe CPS- et de 17,57 % dans le groupe CPS+ et était statistiquement différent dans les deux groupes ; $p=0,04$. Il en est de même en fin de saison avec un taux d'expression moyen de PD1 sur les cellules T CD4+ de 9,15 % et 11,27 % respectivement dans le groupe CPS- et CPS+ ; $p=0,004$.

Par contre le changement de (Août moins Décembre) du taux d'expression moyen de PD1 sur les cellules T CD4+ était similaire dans les deux groupes et étaient de 6,10 % et de 6,23 % respectivement dans le groupe CPS+ et CPS- ; $p=0,55$.

Toute fois nos résultats suggèrent une nette diminution du taux d'expression moyen de PD1 sur les cellules T CD4+ entre le début de la saison en Août en et la fin de la saison en Décembre dans les deux groupes. Cette réduction de la proportion moyenne d'expression de PD1 sur les cellules T CD4+ entre les deux périodes pourrait être expliquée par la prévalence du paludisme entre les deux périodes.

Nos résultats sont consistants avec ceux d'une étude cohorte réalisée par Weiss GE et al au Mali chez les enfants âgés de 5 à 11 ans pendant la saison de transmission qui avait observé des proportions élevées d'expression de PD1 dans les cellules T CD4+ après une infection palustre [28]. Ils sont également

consistants avec ceux de Butler et al, qui disaient que le paludisme clinique entraîne une augmentation de la régulation du taux d'expression du récepteur inhibiteur PD1 sur leurs lymphocytes T CD4 + [29] et de Illingworth et al qui avaient montré chez les enfants kenyans que l'exposition persistante à l'infection par *Plasmodium falciparum* était associée à une augmentation de la régulation de l'expression de PD1 et de LAG-3 sur les lymphocytes T CD4 [31]. Horne-Débets JM et al avaient montré également que pendant le paludisme chronique, PD1 agit comme médiateur de la perte et de l'épuisement des lymphocytes T CD8 + spécifiques aux parasites avec une certaine perte de la capacité de fonctionnement des lymphocytes T CD4+ [30]

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

VII. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

1. Conclusion

L'étude n'avait pas montré une association de la CPS avec la proportion d'expression de PD1 sur les cellules T CD4+, sur l'infection palustre ainsi que l'anémie qui y est associée.

2. Recommandations

- Poursuivre les études d'impact de la CPS sur les cellules T suppresses.
- Etudier l'effet de la CPS sur les cellules T suppresses pendant toute la saison de transmission du paludisme

REFERENCES

VIII. REFERENCES

1. Gentilini M, Duflo B. Médecine tropicale, Flammarion, Médecine Sciences, 839 pp. (1986).
2. OMS : rapport sur le paludisme 2015.
3. Communiqué du gouvernement sur la situation d'urgence du paludisme au Mali.
<http://maliactu.net/mali-communique-du-gouvernement-sur-la-situation-durgence-du-paludisme-au-mali/>
4. Plan stratégique pour la pré-élimination du paludisme au Mali, Conseil de Cabinet Jeudi 31 Mars 2016)
5. Dicko A et al, (2011). Intermittent Preventive Treatment of Malaria Provides Substantial Protection against Malaria in Children Already Protected by an Insecticide-Treated Bednet in Mali: A Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. PLoS Med 8 (2): e 1000407
6. DOUMBO. O, Ouattara. N.I, Korta. O, Maharaux. A, Touré. Y.T, Traoré. S.F et Quilici. M. Approche éco-géographique au paludisme en milieu urbain : ville de Bamako au Mali. Ecol. Hum, vol 8, n^o2 page 3-15, 1989.
7. Enquête démographique et de sante du Mali EDSM-V.2012-2013.
8. Lengeler C. Insecticide-treated bed nets and curtains for preventing malaria. Cochrane DatabaseSystRev. 2004 ;(2):CD000363.
9. Dicko A, Diallo AI, Tembine I et al. Intermittent preventive treatment of malaria provides substantial protection against malaria in children already protected by an insecticide-treated bednet in Mali: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. PLoS Med 2011; 8: 1000407.
10. World Health Organization WHOGlobal Malaria Programme (2012). WHO policy recommendation: Seasonal malaria chemoprevention (SMC) for Plasmodium falciparum malaria control in highly seasonal transmission areas of the Sahel sub-region in Africa. March 2012. Available at http://www.who.int/malaria/publications/atoz/who_smc_policy_recommendation/en/.

11. Bronner U, Divis pc, farnetA, singhB. Swedish traveller with plasmodium knowlesi malaria after visiting Malaysian Borneo. *MalarJ*. 2009 Jan 16; 8:15].
12. ZOUNAGRABE étude de l'efficacité hématologique, Clinique et parasitologique de la chloroquine et la sulfadoxine-pyriméthamine dans le traitement de l'accès palustre simple de l'enfant dans la région de Bobo-Dioulasso de 1997 à 1999. Thèse de pharmacie, Bamako 2001, nO° 01-p-30
13. OMS: World Health Organization. Severe *falciparum* malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2000; 94 suppl 1: S1-S90).
14. Pierre A. Diplôme de Médecine tropicale des Pays de l'Océan Indien. Paludisme. Actualités 2004. Mise à jour le 21/09/2004
15. Théra M.A, Diakité M, Keita H. Dembélé, Dolo A, Diallo M, Ouattara A, Touré O et Doumbo O. Anémies et affections parasitaire. *Mali médical, Tome XIV, N° Spécial*, 47 - 56, 1999
16. . Levy Jean Paul. Abrégé d'hématologie. Masson-Paris, 9ème édition, 1998
17. Pasvol G, Weatherall DJ, Wilson RJ. The increased susceptibility of young red cells to invasion by the malarial parasite *Plasmodium falciparum*. *Br J Haematol*. 1980 Jun; 45(2):285-
18. (World Health Organisation. Seasonal Malaria Chemoprevention with sulfadoxine-pyriméthamine plus amodiaquine in children - a field guide. July 2013. ISBN: 9789241504737 [viewed 23 September 2013]. Available from <http://www.who.int/malaria/publications/atoz/9789241504737/en/>)
19. Sylla K, Tine RC, Ndiaye M, Sow D, Sarr A, Mbuyi ML, Diouf I, Lô AC, Abiola A, Seck MC, Ndiaye M, Badiane AS, N'Diaye JL, Ndiaye D, Faye O, Dieng T, Dieng Y, Ndir O, Gaye O, Faye B. Sero-epidemiological evaluation of *Plasmodium falciparum* malaria in Senegal. *Malar J*. 2015 Jul 16; 14:275.
20. Wirth JP, Rohner F, Woodruff BA, Chiwile F, Yankson H, Koroma AS, Russel F, Sesay F, Dominguez E, Perry N, Shahab-Ferdows S, de Onis M, Hodges MH. Anemia, Micronutrient Deficiencies, and Malaria in Children and

Women in Sierra Leone Prior to the Ebola Outbreak - Findings of a Cross-Sectional Study. PLoS One. 2016 May 10; 11(5): 0155031.

21. Daouda Drissa SANOGO : Aspects épidémiologiques du paludisme et de l'anémie chez les enfants de 0 à 9ans dans une zone d'endémie palustre : cas de la zone irriguée de selingue. Thèse de doctorat en médecine-2012.

22. Diawara F, Steinhardt LC, Mahamar A, Traore T, Daouda T Kone, MD; Diawara H, Kamate B, Kone D, MD; Diallo M, Sadou A, Muhigo J, Sagara I, Djimde AA, Eckert E, Dicko A. Measuring the impact of seasonal malaria chemoprevention as part of routine malaria control in Kita, Mali. under review BMC Infect Dis.

23. Kalifa Diarra : Impact de la chimioprévention du paludisme saisonnier (CPS) sur la parasitémie, l'anémie et les anticorps antipalustres chez les enfants âgés de 3 à 59 mois avant et après la saison de transmission dans le district sanitaire de Ouéléssébougou en 2014, Mali.

24. Dicko A, Diallo AI, Tembine I, Dicko Y, Dara N, Sided Y, Santara G, Diawara H, Compare T, Djembes A, Chandramohan D, Cousens S, Milligan PJ, Diallo DA, Doumbo OK, Greenwood B. Intermittent preventive treatment of malaria provides substantial protection against malaria in children already protected by an insecticide-treated bednet in Mali: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. PLoS Med. 2011 Feb 1; 8(2): e1000407.

25. DICKO ET AL : Evaluation de la mise en œuvre de la chimioprévention du paludisme saisonnier dans le district de Kita. Mali, Août-Novembre 2014. (En cours de publication).

26. MEDECINS SANS FRONTIERES : rapport sur la chimioprévention du paludisme saisonnier (CPS) au Tchad, juillet-octobre 2012.

27. MANGA IA1, NDIAYE JL1, BA M2, DIOP M2, NDIAYE Y3, NDIAYE M1, SECK A1, TAIROU F1, KOUEVIDJIN E1, LAM A1, SYLLA K1, SOW D1, R TINE1, NDIAYE D1, FAYE B1, P MILLIGAN4, GAYE O1.

28. Weiss GE, et al. The Plasmodium falciparum-specific human memory B cell compartment expands gradually with repeated malaria infections.

PLoS Pathog. 2010; 6: e1000912. [PubMed: 20502681]

29. Butler NS, Moebius J, Pewe LL, Traore B, Doumbo OK, Tygrett LT, Waldschmidt TJ, Crompton PD, Harty JT. Therapeutic blockade of PD-L1 and LAG-3 rapidly clears established blood-stage Plasmodium infection. Nat Immunol. 2011 Dec 11;13(2):188-95.

30. Horne-Debit's JM, Faleiro R, Karunarathne DS, Liu XQ, Lineburg KE, Poh CM, Grotenbreg GM, Hill GR, MacDonald KP, Good MF, Renia L, Ahmed R, Sharpe AH, Wykes MN. PD-1 dependent exhaustion of CD8⁺ T cells drives chronic malaria. Cell Rep. 2013 Dec 12; 5(5):1204-13.

31. Illingworth J, Butler NS, Roetynck S, Mwacharo J, Pierce SK, Bejon P, Crompton PD, Marsh K, Ndungu FM. Chronic exposure to Plasmodium falciparum is associated with phenotypic evidence of B and T cell exhaustion. J Immunol. 2013 Feb 1; 190(3):1038-47.

32. Chandele A., Mukerjee P., Das G., Ahmed R., Chauhan V. S. (2011). Phenotypic and functional profiling of malaria-induced CD8 and CD4 T cells during blood-stage infection with *Plasmodium yoelii*. Immunology 132 273–286 10.1111/j.1365-2567.2010.03363.x [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Cross Ref](#)].

IX. FICHE SINNLETIQUE

Nom : SAMASSEKOU

Prénom : Mamoudou B

Nationalité : Malienne

Année de soutenance : 2017

Ville de soutenance : Bamako

Titre de thèse : Effet de la chimio prévention du paludisme saisonnier (CPS) sur l'infection palustre, l'anémie et la proportion d'expression de CD4+PD1+ chez les enfants âgés de 12 à 59 mois au début et en fin de la saison de transmission du paludisme en 2015 à Ouelessebougou, Mali.

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la Faculté de Médecine.

Secteur d'intérêt : Santé publique, Épidémiologie, Parasitologie

Origine de la thèse : Mali

Résumé

Introduction

Le paludisme reste un problème majeur de santé publique surtout en Afrique sub-saharienne. Les enfants âgés de moins de 5 ans sont les plus touchés. La chimioprévention du paludisme saisonnier (CPS) est une nouvelle stratégie qui réduit l'infection palustre et le paludisme maladie de près de 80% chez les enfants amenant l'OMS à la recommandation en 2012 comme politique de lutte contre le paludisme pour les pays sahéliens. Nous avons saisi l'opportunité de la mise en œuvre progressive de la CPS à Ouelessebougou pour étudier l'effet de cette intervention sur la fonction des cellules immunitaires.

Méthodes

Nous avons mené cette étude de cohorte dans deux villages, un où la CPS a été mise en œuvre et un autre où la CPS n'a pas été mise en œuvre pour étudier l'effet de la CPS sur l'expression de PD1 sur les cellules T CD4+ en plus de l'infection palustre et de l'anémie. Au total 100 enfants (dont 50 dans le village où la CPS a été mise en œuvre et 50 dans le village où la CPS n'a été mise en œuvre) âgés de 12 à 59 mois ont été inclus dans l'étude en Août 2015.

Une enquête a été effectuée en début de saison avant l'administration de la CPS et en fin de saison quatre semaines après le quatrième et dernier round de CPS pour mesurer les proportions d'expression de PD1 sur la population des cellules T CD4+ (CD4+PD1+) ainsi que les prévalences de l'infection palustre et de l'anémie.

Résultats

La variation des proportions moyennes d'expression de PD1 sur les cellules T CD4+ était similaire dans les deux groupes en Décembre 2015, tout comme la prévalence de d'infection palustre ainsi que celle de l'anémie.

Conclusion

La chimioprévention saisonnière du paludisme n'a pas été associée à l'expression de PD1 sur les cellules T CD4+, la prévalence de l'infection palustre ainsi que de l'anémie à la fin de la saison de transmission du paludisme dans notre étude.

Mots clés : Paludisme, chimioprévention du paludisme saisonnier, cellules CD4, PD1, anémie enfants, Mali

Abstract

Introduction

Malaria remains a major public health problem, especially in sub-Saharan Africa. Children under 5 years of age are the most affected. The chemoprevention of seasonal malaria (SMC) is a new strategy that reduces malaria infection and malaria disease by nearly 80% in children leading WHO to the recommendation in 2012 as a malaria control policy for Sahelian countries. We seized the opportunity of the progressive implementation of the SMC in Ouelesseboungou to study the effect of this intervention on the function of the immune cells.

Methods

We conducted this cohort study in two villages, one where SMC was implemented and another where SMC was not implemented to study the effect of SMC on expression of PD1 on CD4⁺ T cells in addition to malaria infection and anemia. A total of 100 children (including 50 in the village where SMC was implemented and 50 in the village where SMC was not implemented) aged to 12-59 months were included in the study In August 2015. A survey was conducted at the beginning of the season before SMC administration and at the end of the season four weeks after the fourth and final round of SMC to measure the PD1 expression proportions on the CD4⁺Tcell population (CD4⁺ PD1⁺) and the prevalence of malaria infection and anemia.

Results

The variation in the mean proportions of T cells CD4 + PD1 + was similar in both groups in December 2015, as was the prevalence of malaria infection as well as anemia.

Conclusion

Seasonal chemoprevention of malaria was not associated with PD1 expression on CD4 + T cells, the prevalence of malaria infection, and anemia at the end of the malaria transmission season in our study.

Keywords : Malaria, chemoprevention of seasonal malaria, CD4 cells, PD1, anemia, Mali.

Serment d'hyppocrate

En présence des Maîtres de cette faculté, de mes chers condisciples, devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Etre suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail, je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.

Admis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs, ni à favoriser le crime.

Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.

Je garderai le respect absolu de la vie humaine dès la conception.

Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.

Respectueux et reconnaissant envers mes maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

JE LE JURE.